٢

للممارسين في المختبر الطبي العام

بسائط في
الجراثيميّات الطبيّة

القسم الأول

المبادئ النظرية الأولى - طرائق التعرف على الجرثوم في العينات
أوساط الزرع والطرق المطبقة

إعداد

الدكتور محمد خليل الدبش
الدكتور إياد عمر تنبكجي

للممارسين في المختبر الطبي العام ٣

بسائط في

الجراثيميّات الطبيّة

القسم الثاني

معاملة العينات ـ التحسس الدوائي واجراؤه
الحمات والريكتسيات والميكوبلازما
مبادئ المناعيات العامة والاختبارات المناعية الشائعة

إعداد

الدكتور محمد خليل الدبش الدكتور إياد عمر تنبكجي

الطبعـة الأولـى

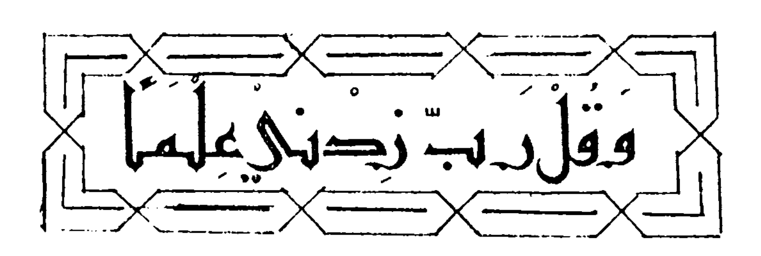
عـدد النسـخ ١٠٠٠

١٩٩١م/ ١٤١١هـ

دمشق ص . ب ١٠٠٧٠

هـ ٢١٨٤٤٧

بسم الله الرحمن الرحيم



نُقل عن الأصفهاني قوله :

«إني رأيتُ أنه لا يكتب أحدٌ كتاباً في يومه ، إلا قال في غدِهِ :

لو غُيِّر هذا لكان أحسن ،

ولو زيد هذا لكان يُستحسن ،

ولو قُدِّم هذا لكان أفضل ،

ولو تُرك هذا لكان أجمل .

وهذا من أعظم العِبَر ، وهو دليل على استيلاء النقص على جملة البشر . . »

فالشكر الجزيل لكل من يُنبهنا إلى أخطائنا . .

المُعِدّان

مقدمـة السلسلـة

تحتـاج المكتبـة العلميـة العـربيـة إلى الكتب التي تعالج الموضوعات الطبية الاختصاصية بشكل مبسط وعملي دون إفراط بالغوص النظري ولا تفـريـط بالمعلومـات الأسـاسيـة التي لا بد منهـا، وبحيث تعـرض الأفكار العلميـة المتجددة وتطبيقاتها المتنوعة ضمن قالب لغوي علمي واضح سهل المتناول والتطبيق للعاملين في الاختصاص الطبي على مختلف مؤهلاتهم العلمية.

نحن حاليـاً بين مستـويـين متبـاينين من الكتب الطبية المطروحة بين أيـدينـا في المكتبـات: تغطي الأولى منهـا مواضيع طبية اختصاصية متنوعة ومـوجهة للاختصاصيين حصراً، والثانية مبسطة جداً وهي بدورها موجهة لعوامّ الناس القارئين.

لقد سعينا في هذه السلسلة الحديثة بجد وجهد ما استطعنا إلى ذلك سبيـلاً لتقـديم مبسطات علمية واضحة في اختصاص الطب المخبري وهي هنا تخاطب جميع العاملين في هذا الحقل الطبي الواسع والمتجدد، بدءاً من الفنيـين المخـبريين وحتى الاختصاصيين المخبريين،وهذه السلسلة العملية تُركّـز على العلوم الأسـاسيـة المطلوبـة والتحـاليـل المجـراة يومياً في المشافي والمختـبرات الطبيـة الخـاصـة، وذلـك بشكـل شامـل وكاف واعتماداً على مصادر يُعتد بها في الطب المخبري مع سَبْك منهجي سلس ربما أجدناه من

خلال ممارستنا العمل المخبري لمدة تنوف عن العشر سنوات في مخابر ومشافي جامعة دمشق ومخابرنا الخاصة. نرجو من الله تعالى أن يجعلها علماً نافعاً لطلابنا وللزملاء العاملين في مختبرات التحاليل الطبية.

الدكتور
محمد خليل الدبش
دكتور في الطب البشري
ماجستير في الطب المخبري
محاضر في المعهد الطبي
بجامعة دمشق

الدكتور
إياد عمر تنبكجي
دكتور في الطب البشري
ماجستير في الطب المخبري
محاضر في المعهد الطبي
بجامعة دمشق

﴿بسم الله الرحمن الرحيم﴾

تَحدَّثنا في القسم الأول السابق من الجراثيميات الطبية، والذي احتل الرقم ٢ في سلسلة «للممارسين في المختبر الطبي العام»، تحدثنا عبر عدة أبواب عن ما يلي:

- المبادىء النظرية الأولى.
- طرائق التعرف على الجرثوم في العينات المرضية.
- أوساط الزرع الجرثومية والطرق التفريقية المطبقة.

وها نحن الآن بين يدي القسم الثاني، والذي يحتل رقم ٣ من هذه السلسلة، وهو يبحث في تتمة الموضوعات العملية التالية:

- استقبال العينات الجرثومية وشروط معاملتها في المختبر
- المعالجة الكيمياوية المضادة للجراثيم وطرق إجراء التحسس الدوائي في المختبر.
- الحُمات الراشحة والريكتسيات والمُتَدثرات والمَفْطورات.
- المناعيات العامة ومبادىء تفاعلاتها والاختبارات الشائعة.

فلنتابع معاً.

الباب الأول

شروط استقبال العينات ومعاملتها

في المختبر

مسحات البلعوم والأنف ـ القشع ـ البول ـ القيح والنتحات

القيحية ـ المني ـ النجيج الاحليلي ـ البراز ـ الدم ـ

سوائل الأجواف المصلية والسائل النخاعي .

شروط أخذ العينات ومعاملتها للفحص المباشر والزرع الجرثومي

لكل عينة جرثومية شروط يجب مراعاتها، حتى نتوصّل إلى التشخيص الصحيح ثم المعالجة الصحيحة، والإخلال بشروط أخذ العينة منّا أو من المريض سيؤدي حتماً إلى نتائج خاطئة، تضيّع الصحة والوقت والمال دون طائل.

- يجب أن ترسل العينة إلى المختبر بأسرع ما يمكن، إذ ربّما أدى التأخير إلى موت بعض العُضَيَّات الممرضة الحسّاسة، أو إقلالها، مع السماح لعُضَيَّات أخرى، ملوِّثة للعينة، بالنمو والتكاثر، بل قد يكون تكاثر العُضَيَّات الملوِّثة أكثر بكثير من معدل تكاثر العُضَيَّات الممرضة، فتطغى جراثيم التلوّث على العامل الممرض الأصلي (كالعصيات الهوائية في البلعوم - النايسريات النزلية في الطرق التنفسية العليا والقشع - جراثيم النبيت الطبيعي في البراز. . .).

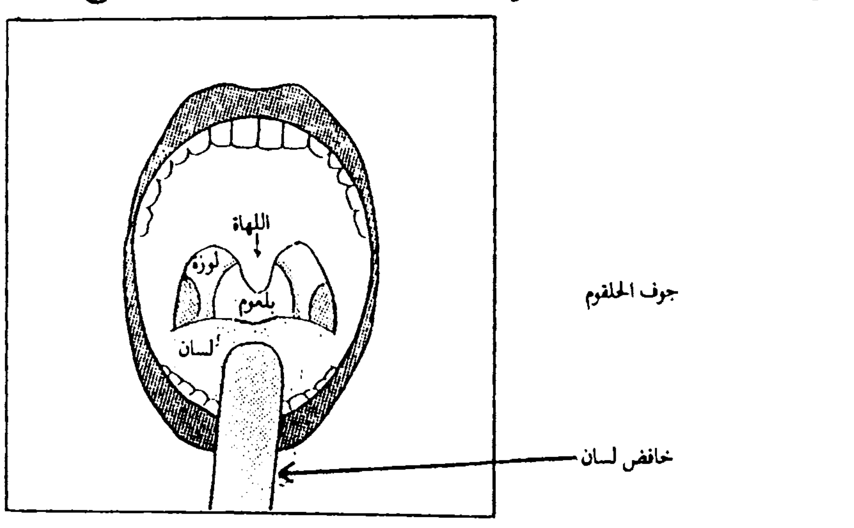
- يُسأل كل مريض جرثومي عن تناوله لأي صادِحيوي قبل ٣ - ١٠ أيام من إجراء الزرع، ونوضح للمريض شروط أخذ العينة كما سيأتي، وعند أخذ العينة نتأكد من أنها نموذجية أم لا، وتُرفض العينات غير النظامية دون تردد مع إيضاح السبب للمريض، وربما تؤجّل إلى أجلٍ مسمّى يُنصح فيه المريض.

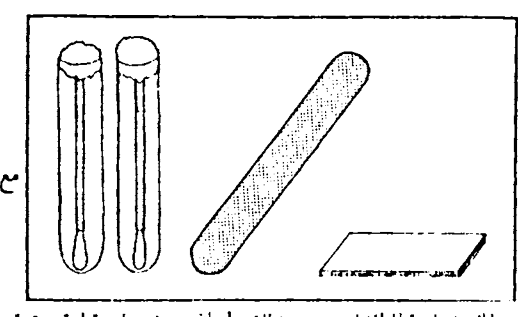
ـ تجمع العينات في أوعية معقمة ملائمة بفوهتها وحجمها ومادتها وإحكامها، للعينة المرسَلة، وتُجرىٰ اللطاخات الجرثومية مباشرة ـ عند الطلب ـ مع تلوينها بطريقة التلوين الملائمة، فهذه اللطاخات تعطينا والطبيب فكرةً مبدئية عن سبب الخمج مع إعطاء العلاج السريع بشكل مبدئي للمريض، كما يساعدنا ذلك في اختيار مستنبتات الزرع الأولى الملائمة (رَ: فوائد تلوين غرام لمحضرات القيح في القسم الأول ـ الباب الثاني).

مسحات البلعوم والأنف

Throat and Nasal Swabs

* تُؤخـذ عينـة الصباح على الريق، خشية التلوث ببقايا الطعام في الفم، أوخشيـة ابتـلاع قيـح اللوزات والبلعـوم مع الطعام، أوخشية زوال قيـح الأنف بالاستنشـار الصباحي، بمساعدة خافض لسان وضوء مصباح،





الشكل (١): صورة تخطيطية للحلق، مع الأدوات اللازمة لأخذ مسحات البلعوم واللوزات

نفتش عن المنطقة المخموجة الحاوية على أغشية أو مفرزات قيحية، فنأخذ عينة من تلك الأماكن المشبوهة بماسحة قطنية معقمة، ثم تُزرع مباشرة على الأوساط التالية:

- أنبوب ثيو غليكولات (قد يُستغنى عنه) - آغار مدمى - آغار شابمان
- آغار ناخب لسلبيات الغرام (EMB - أو ماكونكي . .) ويُحضن الجميع بجو زائد من الـ $Co2$ ، كما وتزرع علبة آگار مدمى مصبوبة وتحضن لدراسة انحلال الدم بشكل أفضل، وقد تزرع علبة آغار مدمى وتُحضن بجو لا هوائي لنفس الغرض.
- تضاف أوساط خاصة عند الحاجة: كوسط لوفلر «للوتديات الخُناقية» - آغار لمحبات الدم «آغار شوكولاتي مع عوامل النمو» . . ؛ وسط ثاير مارتين للنايسيريات السحائية - أوساط زرع الفطور: مرق سابورو، أو آغار سابورو دكستروز أو مرق BHI . كما وتجرى عند الحاجة لطاخات للتلوين بملون غرام أو بزرقة الميتيلين.

* الجراثيم المعزولة الشائعة:

نحن حيال منطقة تحوي نبيتاً جرثومياً متنوعاً في الفم والبلعوم والأنف، لكن اجتياح مستنبت الزرع من قبل جرثوم واحد منها، وطغيانه على الباقي يدل على صلته بإحداث الخمج. «ر: الزمرة الطبيعية في القسم الأول - الباب الأول».

وبشكل رئيسي تكون العضيات المسببة : العِقْديّات الحالّة β أو العقديات الحالّة ∝ المخضرة ـ العنقوديات (إيجابية المخثّراز والمانيتول) ـ وعصيات سلبية الغرام خاصة عند الأطفال والمدخنين. المبيضات البيضاء : وهذا الرباعي الممرض هو الأكثر تواتراً في إحداث خمج البلعوم.

ـ للحكم السريع بالتشخيص قد نلجأ لتطبيق اختبارات التراصّ النوعية المباشرة أو باللاتكس على الصفيحة،لزُمَر: العنقوديات أو العقديات أو النايسيريات السحائية. . .

ـ هناك جراثيم أخرى تسبب الخمج بتواتر أقل بكثير هي : الوتديات الخُنَاقية ـ المزدوجات الرئوية ـ النايسيريات السحائية ـ مُحبّات الدم وغيرها. . .

عينات القشع

Sputum Specimens

* اعتبارات عامة:

القشع نتاج مرضي للقصبات التنفسية المصابة، وبالتالي فهو يعكس الحـ... مرضية للرئتين والشجرة القصبية، في حين أن اللعاب مفرز غريزي من العدد اللعابية في الفم، ويجب حذفه من عينة القشع ماأمكن.

- تجرى على القشع فحوصات شائعة عديدة يهمنا منها عملياً مايلي: تحري العصيات المقاومة للحمض بالتلوين المقاوم للحمض (تسيل نلسون أو كينيون...) - فحص القشع بطريقة غرام لتحري الجراثيم والفطور - تحري محبات الحمض «الإيوزينيات» بالقشع في آفات الصدر التحسسية كالربو، بتلوين رايت أو غيمزا - زرع القشع الجرثومي المنوالي - زرع القشع قبل التجنيس وبعده لعزل عصيات السل. وهناك تحريات نسجية للتشريح المرضي.

- يجب فحص القشع فحصاً عيانياً أولاً، نحدد فيه: المظهر واللون والرائحة، كان نقول: [القشع رقيق أم كثيف، قليل أم غزير، مدمى بخيوط دقيقة أم بنقاط ام مترافق بنفث دم صريح، قيحي نتن، أو مخاطي كثيف لزج «عند مرضى الربو» أو صدئي أو بني فاتح أو رغوي زهري «وذمة الرئة عقب استرخاء القلب الإحتقاني»، أو رمادي كامد، أو مسود، أو مخضر، أو حاوٍ على قطع التجبن «نسيج رئوي متموت ومتخثر كما في حالات

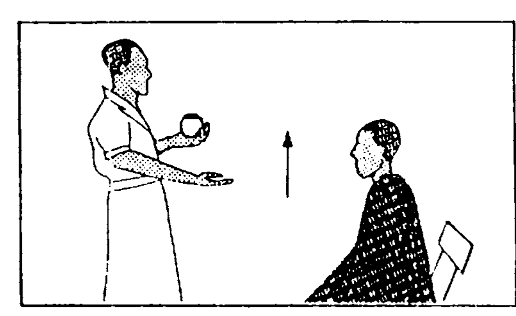
السل المترقي»].

* تعليمات إخراج القشع «التقشّع»:

تُفَضَّل عينة الصباح الباكر بُعيد الاستيقاظ مباشرة، ويمكن تجاوز هذين الشرطين عند المرضى الذين يتقشعون باستمرار، وبعد مَضْمَضَة الفم بالماء العادي عدة مرات، ودون تناول أية مادة أخرى عن طريق الفم، لمنع تلوث القشع باللعاب أو بالبقايا الطعامية، علماً أن القشع صباحاً يكون أغزر عادة عند المرضى من الأوقات الأخرى لتجمُّعه في القصبات طيلة الليل.

ـ أما عند **الأطفال** فإنهم لا يعرفون التقشع خارجاً، ولا بدّ عندهم من إجراء رُشافة للقصبات من قبل الطبيب الصدري، أو إجراء فحص لثُفالة سوائل غسل المعدة عندهم؛ كما أن بعض المريضات أيضاً يَمِلْن أيضاً لابتلاع القشع وعدم تفّه خارجاً كما يفعل الرجال؛ وعموماً نستطيع تحريض التقشع عند المرضى الذين لا يسعلون بإنشاقهم أبخرة مزيجٍ حارٍ من محلول مخرّش خفيف ليحرِّض السعال لديهم، ونحصل على القشع منهم.

ـ يكون المريض حين التقشع بوضعية قائمة ما أمكن، ويستوي قاعداً فيها إذا كان مضطجعاً، ثم يأخذ شهيقاً عميقاً إلى مداه الأقصى، والآن يجري حركة الزفير مصحوبة بالسعال بقوة وعمق دفعة واحدة، ثم يتفُل بوعاء عقيم ذي فوهة واسعة مناسبة، وقد يضطر لتكرار هذه الحركة للحصول على القشع المطلوب.



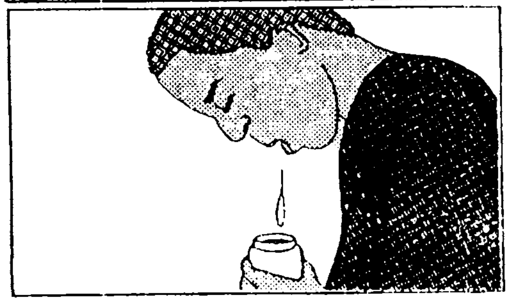
1. ينبغي أن يكون المريض
في وضع قائم إن أمكن.



2. يأخذ نفساً عميقاً جداً يملأ رئتيه.



3. يفرغ رئتيه بزفير واحد،
ويتسعل بأقوى وأعمق ما يستطيع.



4. يتفل ما يصل إلى فمه في
حنجور النموذج.

الشكل (٢) طريقة التقشع وتعليمه للمريض

ـ إن واجب المخبري تعليمُ المريض طريقةَ التقشع بوضوح وبساطة مع التمثيل.

ـ تُزرع **الأوساط الجرثومية** التالية منوالياً: أنبوب ثيوغليكولات (وقد يُستغنى عنه) ـ علبة غراء مدمى للحضن الهوائي وأخرى غراء مدمى مصبوبة لدراسة الإنحلال. (رَ: طرق الزرع بالقسم الأول ـ الباب الثاني) ـ وسط ناخب لسلبيات الغرام (E.M.B ـ أو ماكونكي) ـ آغار شوكولاتي مع عوامل النمو عند الحاجة. يُحضن الجمْع بجو زائد الـ CO2 لمدة ١٤ ـ ١٨ ـ ٤٨ ساعة حسب الحاجة.

ـ قد نستعمل **أوساطاً خاصة** أخرى عند الحاجة: كوسط بُورْدِهِ جِنْكُو للمستدميات الشاهوقية ـ أوساط الفطور: كوسط سابورودكستر وزمع الصادات الحيوية لتعزيز نخبه أو دونها أو غراء BHI مع الصادات والدم.

كشف عصيات السل في القشع:

تُجرى تحريات عصيات السل على القشع قبل عملية هضم القشع وبعدها.

ـ يقصد بعملية **الهضم أو تجنيس** القشع: فكُّ لزوجة القشع وحلّه، وإتلاف الجراثيم الأخرى الملوّثة، مع الحفاظ على حياة العصيات السلّية وزيادة تركيزها أيضاً.

ـ تُجرى اللطاخات من الأمكنة المشبوهة من القشع (دم ـ قيح ـ اخضرار ـ أو كدرة: بلون القشع، الأمكنة اللزجة الثخينة. .) قبل هضمه، وكذلك من الثفالة المركّزة الناتجة من القشع المهضوم.

تجري عملية الهضم بعدة طرق، سنصف منها طريقة ماءات الصوديوم:

ـ تُنقل عينة القشع إلى أنبوب تثفيل عقيم ذي غطاء محكم؛ وتضاف إليه كمية مساوية من محلول ماءات الصوديوم ٤٪ المعقمة؛ نمزج بشدة بالمزّاجة الآلية لمدة ١٥ دقيقة؛ ثم يُثفّل الناتج بسرعة عالية لمدة ٢٠ دقيقة؛ يُبان الطافي؛ وتضاف قطرة من محلول مشعر زرقة البر وموتيمول المعقم (بالحامض: أصفر، بالقلوي: أزرق)، ومن ثم تعدّل الثفالة بشكل مضبوط بحمض كلور الماء 2N المعقم حتى الحصول على اللون الأصفر؛ ثم يعدّل ثانية بماءات الصوديوم ٤٪ المعقمة حتى ظهور اللون الأزرق بثبات؛ وباستعمال ممصات باستور المعقمة تُحضّر لطاخات للتلوين المقاوم للحمض من الثفالة الناتجة، كما وتزرع على وسط لوفنشتاين جونسون بالبيض، وقد يضاف غراء 7H-11 لعزل العصيات السلية.

ـ ننتظر لمدة ٤ ـ ٨ أسابيع للحكم على سلبية الزرع.

ملاحظة:

قد يكتفي البعض بإجراء اللطاخات المباشرة من القشع، وكذلك زروع السل، من أمكنة القشع المشبوهة دون إجراء التجنيس، على خلاف فيما بين المصادر.

*** أهم الجراثيم التي يمكن عزلها من القشع المَرَضي:**

العِقْديات الرئوية ـ الكليبسيلّة الرئويّة ـ العنقوديات الذهبية ـ المكورات الدقيقة ـ المُسْتَدْميات النَزْلية ـ المُتَفَطِّرات السِّلِّيَّة ـ وغيرها . .

عينات البول

Urine Specimens

* اعتبارات عامة :

- البول سائل عقيم في مستودعه بالمثانة، غير أنه عُرضة للتلوّث بسهولة عند خروجه، خاصة عند النساء، وهذا ما يجب حذفه من العينة.

- إن مصدر الجراثيم الممرضة في البول (البيلة الجرثومية)، إما من الجهاز البولي بالذات، أومن مكان آخر مخموج في جسم المريض، وعندما يكون مصدر الخمج جهاز البول نفسه، فإننا لا نستطيع تحديد مكانه هل هو عُلْوي (كلية - حويضة - حالب) أم سُفْلي (مثانة - إحليل) في المختبر الطبي.

- إن فحص البول والراسب البولي المِنوالي، مع تلوين الثُفالة بملون غرام أوغيرها، لا يقلّل مطلقاً من قيمة الزرع، إذ تبقى للأخير الأولوية في تشخيص خمج السبيل البولي بتحديد الجرثوم الممرض مع عدد مستعمراته في مل بول، وإجراء التحسس الدوائي له.

- يتظاهر خمج السبيل البولي الحاد Acut urinary Tract Infection بوجود الكريات البيضاء في الراسب البولي بمقدار يساوي أو أكثر من ١٠ / ساحة المجهرية بالتكبير ٤٠× (البيلة القيحية Pyuria) إضافة لوجود الجراثيم الممرضة بكميات كبيرة (البيلة الجرثومية Bacteriurea) معاً، غير أن هناك نسبة معتبرة من الحالات تكون فيها البيلة الجرثومية بمفردها هي الدّلالة على وجود الخمج البولي.

* شروط عينة البول منوالياً:

: يُفَضَّل الحصول على العينة من البِيْلَة الصباحية الأولى وعلى الريق، (ويمكن تجاوز هذين الشرطين فيها إذا كانت الأعراض حادة صاخبة) ومن وسطها (عينة وسط الإبالة Midstraim)، سواء لإجراء فحص البول والراسب أو للزرع الجرثومي (وحتى لإختبارات الحمل المناعية على البول أيضاً)، على أن يوضع البول في وعاء عقيم يطلب سلفاً من المُخْتَبر، وذلك بعدتطبيق الشروط التالية:

أ ـ عند الذكور:

تُنظَّف منطقة صِماخ الإحليل جيداً بالماء والصابون، ثم قد يطبّق محلول مطهر لطيف مناسب، وننتظر حتى جفافه تماماً، ثم يبدأ المريض بالتبوّل، وبشكل مِنْوَالي: تُلْقى الكمية الأولى خارجاً ثم يُملأ وعاء جمع البول العقيم المهيأ بعدها؛ قد يكون طلب الطبيب المعالج إجراء الفحوصات على عينة بداية الإبالة فقط لتحري آفات الإحليل، أوعلى عينة آخر الإبالة لتحري آفات المثانة، فنتقيّد بالمطلوب حينئذ.

ب ـ عند النساء والبنات الصغار:

ـ نُذكِّر هنا أن عملية التبول عندهن يمكن تشبيهها برشاش بول للمنطقة التناسلية (دشّ بولي)، وعلى هذا نؤكد على اتباع الشروط التالية:

تُنَظَّف كامل المنطقة ظاهراً وباطناً بالماء والصابون، وتجفف بأوراق

نظيفـة ، وقـد يُمسـح الصـماخ بمُطَهِّـر لطيف ملائم ، وبعـد الجفـاف تبـدأ المـريضـة بالتبـول حيث تُلقي الكمية الأولى خارجاً ، وتضع الباقي في وعاء جمع البـول العقيم المهيأ ؛ ويمكن تجاوز شرط تطبيق المُطهِّـر فيما إذا كانت المرأة من المتطهرات لإعتنائها بنظافتها أصلاً .

جـ ـ عند الأطفال الصغار (بالحافظات) :

توجـد أكياس خاصة معقمة من اللدائن الطريّة : سهلة الاستعمال ، وتطبق عند البنات والصبيان : حيث تُعَلِّم الأم طريقة وضع الكيس الخاص دون تلويثه بالأيدي أو ببراز الطفل أو بثيابه وخرقه :

تُنظّف منطقـة التبـوّل وما حولها ظاهراً وباطناً بالماء والصابون جيداً ، ثم تجفف بأوراق نظيفـة ، وقـد نمسح الصماخ بمطهر لطيف مناسب ، وعند الجفاف تماماً تلصُق الأمُ الكيسَ المهيأ سابقاً دون أن تلوثه من باطنه مطلقاً ، وبحيث يغطي منطقة التبول فقط دون إشراك فوهة الشرج ، لتجنب التلوث بالغـائـط ؛ يُترك الكيس على وضعه لبضع ساعات ثم يُنزع بلطف وتلصق فوهتـه بإطبـاقهـا على الـلاصق ، ثم يوضـع في غمـده الأصلي ويُرسل إلى المختبر بسرعة .

د ـ تحري عصية السل في البول وزرعها :

يفضـل جمع كامـل بول ٢٤ ساعة في وعاء عقيم ، وقد نكتفي بكامل البيلة الصبـاحيـة الأولى ، وعنـد إحضـار العينـة نقـوم بتكثيفها لعدة مرات للحصول على ثفالات ، ونعاود تكثيفها مجدداً بالتثفيل . . وهكذا ، وفي آخر

المطـاف نحصـل على بضع ميليلترات من الثُفالة المُركَّزة التي تشكل مكثف بول العينة كاملاً.

تُجرىٰ تحريات عصيات السل على هذه الثُفالة المركزة الناتجة.

ـ ملاحظة:

يجب زرع عينة البول بأسرع ما يمكن، ذلك أن البول في حرارة المختبر (٢٠° ـ ٢٥° م) وخاصة في الصيف، يشكل وسطاً زرعياً ملائماً لنمو الجراثيم وتكـاثـرهـا، وفي حال خشيـة التأخـر، يمكن حفـظ العينـات بالبراد لعدة ساعات قبل معاملتها.

الزرع:

منوالياً: يزرع البول على الأوساط الجرثومية التالية: الآغار المدمى، وسط ناخب لسلبيـات الغـرام (E.M.B ـ ماكـونكي)، ولا نستخـدم عادة مرق الثيـوغليكـولات، وقـد نستخـدم أوسـاطـاً خاصـة لعصيـات الســل أو النايسيريات عند الحاجة.

ـ تعداد المستعمرات البولية:

تسمـح الـدراسـة الكمية لعدد المزارع الجرثومية البولية بالتمييز غالباً بين الخَمَـج البـولي الحقيقي والتلوث الخـارجي، إذ تُقَـرَّر بمـلاحظة أعداد كبيرة من الأخماج البولية أن:

أ ـ وجـود ١٠٠ ألف جرثـوم/ مـل بول أو أكثـر (≥ ١٠^٥) يُعـدّ مشخصاً لخمـج السبيـل البـولي الحاد باحتمال كبير، شريطة أن تطبق قواعد الطهارة السابقة في جمع عينة البول.

ب ـ عدد الجراثيم الذي يقل أو يساوي عن ١٠ آلاف جرثوم/ مل بول (≥ ١٠^٤) ينفي باحتمال كبير الخمج الحاد، بل قد يرجح التلوث.

جـ ـ عدد الجراثيم الذي يتراوح بين ١٠ ـ ١٠٠ ألف جرثوم/ مل بول (١٠^٤ ـ ١٠^٥) قد يدل على خمج: حاد، أومزمن، أوناكس، أوخمج معالج بالصادّات الحيوية معالجة ناقصة، أو تلوث ما أثناء التبول، أوسوء حفظ العينة في المختبر أوعدم مراعاة شروط الطهارة السابقة عند أخذ العينة، وقد يلجأ الطبيب المعالج في مثل هذه الحالات إلى إعادة الزرع ثانية إن لم يتوصل إلى تفسير شافٍ يتوافق مع الحالة السريرية للمريض.

ـ يجب تحري الراسب البولي النظامي لكل عينة زرع بول، وذلك لكشف الخلايا القيحية والتوسفية فيها، وعند نمو أكثر من نوع واحد من الجراثيم بالزرع، مع وجود الخلايا التوسفية بغزارة في الراسب البولي أصلاً، فإن هذه دلالات قوية على وجود التلوث.

ـ مما سبق نقرر أن «كل زرع بولي دون إجراء عد مستعمراته الجرثومية في الميليلتر لا قيمة له».

طرق عدّ المستعمرات البولية:

نُجمل طرق العد كما يلي:

أ ـ اختبارات الكشف العامة: وهي متنوعة وغير دقيقة بكفاية، وتستعمل عادة لأعمال التقصّي Screening الوبائي، وهي لا تطبق في المختبرات الطبية العامة والخاصة، ومثالها: فحص قطرة عبيطة من البول الممزوج لتقدير عدد الجراثيم بالساحة ـ اختبار قلب النترات إلى نتريت. . .

ب ـ **اختبارات نصف كمية** : سهلة التطبيق ومنتشرة، ويُقبل بدقتها بأيدٍ مَهَرَة، وذلك باستخدام غانة معايرة (بقطر ٣ ملم مثلاً) وعند غمسها في البول فإن عُروتها ستحمل كمية تقدّر بـ ٠,٠١ مل بول وأخرى تحمل ٠,٠٠٥ مل بول. . .

تُفرش الأخيذة جيداً على كامل سطح الغراء، لتحقيق استفراد وعزل جيدين،وبالتالي لنتمكن من عدّ المستعمرات النامية بدقة كافية، ثم تضاعف النتيجة بما يناسب لإكمال الحجم المعدود لـ ١ مل بول (١٠٠ × بالغانة الأولى، و٢٠٠ × بالغانة الثانية).

جـ ـ **الاختبار الكمي** : وهو الاختبار الدقيق،وتُحضّر فيه تمديدات دقيقة لعينة البول بالماء المقطر المُعقّم أو بالمحلول الملحي الغريزي المعقم، وباستعمال ممصات وجملة أنابيب عقيمة، ونحضّر تمديدات للبول ١٠٠ : ١ أو ١٠٠٠ : ١ حسب كثافة الجرثوم بالعينة، ثم نفرش بالزرع ٠,١ مل أو ١ مل بول ممدّد على كامل الغراء ونحضن؛ ومن ثم نقوم بعدّ المستعمرات النامية مع مضاعفة الرقم الناتج حسب نسبة التمديد المجراة، وبحيث نحصل في النهاية على عدد المستعمرات الجرثومية في ١ مل بول كامل أصلي.

ملاحظة : يفضل لتسهيل عد المستعمرات استخدام علب بتري واسعة القطر، ومخططة من قعرها أو نقوم نحن بتخطيطها بدقة.

ـ **الجراثيم التي يمكن عزلها من السبيل البولي** :

الأنتروباكتر (الأمعائية) ـ الكليبسيلّة ـ المتقلّبات ـ الإيشريكيات

القُولُونيّة ـ العقديات الحالة للدم β ـ العنقوديات الممرضة ـ السيراتيّة ـ الزوائف (مع وجود سوابق قصة قثطرة بولية أو مداخلات آلية بولية لتنظير الإحليل أو المثانة أو أخذ خزعات . .) ـ النايسيريات البُنيّة ـ المُتفطّرات السلية ـ وغيرها . .

- علماً أن الأخماج البولية بسلبيات الغرام تفوق نسبتها كثيراً تلك التي تسببها إيجابيات الغرام (حوالي ٩/١).
- وأن الأخماج البولية عند الإناث أكثر منها عند الذكور (٢/١ أو ٣/١).

عينات القيح والنتحات القيحية

Pus, and Purulent Discharge

(خـرّاجـات ظاهـرة أومستبطنـة، سيلان أذن وسطى، دمامل الجلد والبثـور الجلدية، الجروح أو الكسور المقيحة، العضّات المتقيحة، مفرزات نواسير نازّة عظمية أوجلدية، أخماج النسيج الخَلوي تحت الجلد، مسحات المَهْبِل وعُنُق الرحم المتقيّحة: أي "الضائعات المَهْليّة القيحية).

* اعتبارات عامة:

يجب أخذ العينات دون تماسها مع أية مادة صادّة كالمراهم أو المحاليل المطهرة، وكذلك تجنب تلوث القيح بالجلد المحيط أو بالأشعار المحيطة. . . وبـالجملة: يجب الحصـول على القيح الصرف العبيط المُسْتكِنّ داخلاً دون أية معاملة له أو تلوّث:

- نتأكد دائماً فيما إذا تناول المريض صادات حيوية منذ ٣ ـ ٧ أيام قبل إجراء الزرع،فهذا قد يؤجل الزرع لأيام.

- نتنبـه دائـماً في كل حركـة أثنـاء أخـذ العينات، حتى لا نلوث الغانة أو الماسحة بالجلد المحيط أو بالأشعار المحيطة. .

أخذ العينات:

- في القيــح المستبطن العميق، يمكن للطبيب الجـراح رشف القيـح بمحقنة نَبُوزَة Disposable ـ ثم إجراء الزرع بعد ئذ مباشرة.

- إذا كان القيح سطحياً (جرح كبير ـ فوهة ناسور ـ بثرة . .) فيمكن

أن نأخذ عينة القيح بالمختبر بماسحة معقمة نظامية أو بالغانة المعقمة، ومن ثم تزرع مباشرة على الأوساط المهيأة.

ـ دائماً نفضّل إجراء عصر لطيف ومديد لشَفَتَيّ الجرح أو فوهة الناسور لاستخراج القيح الصرف العبيط المستكن داخلاً.

ـ قد نؤجل لعدة ساعات أخذ العينة، فيما إذا كان القيح قد رُشِف سابقاً للتنظيف، أو في حالة لم نتمكن فيها من الحصول على القيح العبيط المطلوب.

معاملة العينات:

ـ يفضل دائماً تحضير لطاخات غرام من القيح، أو لطاخات بالتلوين المقاوم للحمض أو بزرقة الميتيلين، حسب الطلب، إذ أن التلوين عامل هام لبدء المعالجة الأولية للمريض ريثما ينتهي الزرع مع التحسس الجرثومي (٤٨ ـ ٧٢ ساعة).

ـ تؤخذ عينة قيح نظامية أخرى، وتزرع على الأوساط التالية:

أنبوب ثيوغليكولات ـ علبة غراء مدمى بالتثليم وأخرى بالصب ـ غراء شوكولاتي ـ غراء ناخب لسلبيات الغرام ـ ويُحضن الجُمْعُ بجوزائد الـ CO_2.

ـ كما ونستخدم أوساطاً أخرى خاصة عند الطلب، كوسط لعزل البنيّات ـ ووسط لعصيات السل ـ أوساط الزرع اللا هوائي.

ـ يُعْلَم الطبيب مباشرة بتقرير جرثومي أولي عن نتيجة تلوين

اللطاخة القيحية المباشرة (مثلاً: عصيات سلبية الغرام - أغصان فطرية مع خلايا فطرية متبرعمة نُرجح فيها الإصابة بالمبيضات البيض - مزدوجات سلبية الغرام داخل الخلايا وخارجها - عصيات مقاومة للحمض بكميات قليلة..) مع ذكر الموجودات الأخرى (الكريات البيضاء ونوعها، الفطور، الطفيليات..).

أهم الجراثيم المعزولة:

العنقوديات الممرضة (إيجابية المُخَثِّراز والمانيتول) - العقديات المُقيِّحة (زمرة A غالباً) العقديات الرئوية - العصيات القَوْلُونيّة الشكل Coliforms - المتقلبات - الزوائف (خاصة من قيح الأذن أو الجروح الملوثة) - المُسْتَدْميات - المِطَثِّيات (في الحروق والجروح الملوثة المتهتكة) - المكورات اللا هوائية..

عينات المني

Semen

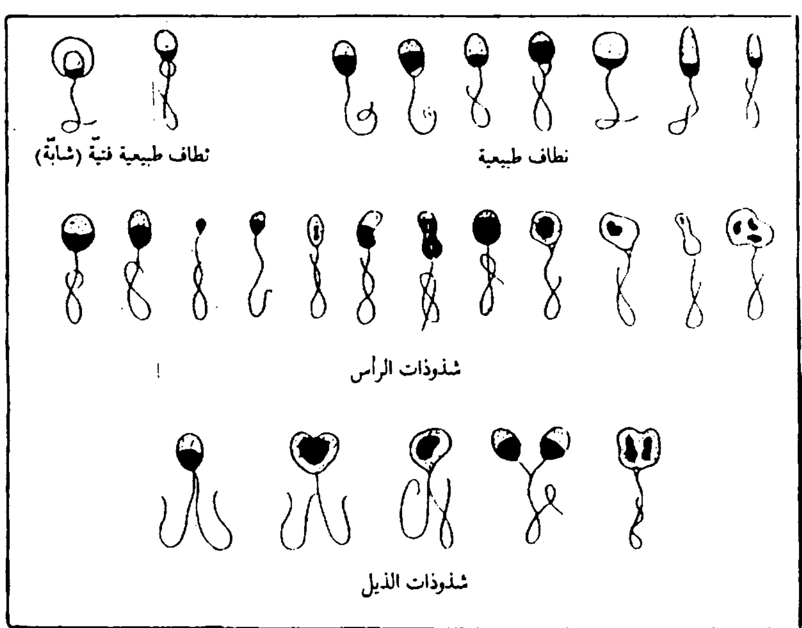
* اعتبارات عامة :

يتكون المَنِيّ من :

١ ـ النُطَف ، ومصدرها خلايا أنابيب الخصية .

٢ ـ المُصَوّرة المَنَويّة ، وتُفرز أساساً من غدة الموثة Prostat والحويصلين المنويين ، وبدرجة أقل من الغدد البصلية الإحليلية والبربخ .

٣ ـ الخلايا التوسفية ، وتفرز من الغدد الملحقة بالجهاز التناسلي ومن الأقنية المفرغة . (ر: تحليل البول والسوائل الحيوية في الجزء التالي) .



الشكل (٣) أشكال النطاف الطبيعية ، وشذوذاتها الشائعة :

ـ يُستطب إجراء تحليل السائل المنوي Spermogram أساسياً لمعرفة مدى قابلية الرجل لإنجاب الذرية؛ وكذلك لتحري وجود الكريات البيضاء بغزارة (خمج) أو الكريات الحمراء (نزف)، وكذلك لإجراء عيار سكر الفواكه Fructose الذي يعكس مدى فعالية التستوسترون. (ر: في الجزء التالي عن تحليل البول والسوائل الحيوية).

ـ يستطب إجراء زرع المني لتحري الأخماج الجرثومية المختلفة المنوالية، أو السلّيّة في الجهاز التناسلي عند الرجال.

شروط أخذ العينة:

يجب أن يتم إنزال الدَفْق المنوي دون جماع قطعاً لئلا تختلط العينة مع مفرزات المهبل وما حوله، وذلك بعد تطهير صماخ الإحليل بالماء والصابون أو بمطهر لطيف مناسب، ونعطي المريض وعاء عقيماً واسع الفوهة حتى تقذف كامل العينة داخله دون ضياع.

زرع المني:

يزرع السائل المنوي حال وصوله بعد مزجه جيداً، على الأوساط التالية: آغار ثاير ـ مارتين T.M ـ آغار شوكولاتي ـ آغار مدمى ـ أنبوب ثيوغليكولات.

يُحضن الجَمْع بالدرجة ٣٧° م بجو زائد الـ CO2 (٥٪) كما قد تحضن علبة آغار مدمى أخرى بجوٍ لا هوائي.

ـ من الممكن إجـراء لطـاخـات للتلوين بملون غرام للتحـري عن البُنيّـات أو الليســتر يــة المستــوحـدة Listeria Monocytogens (أو بزرقـة الميتلين)، كما قد نستخــدم آغـار سابـورو ـ دكستـروز إذا شُك بمسؤوليـة الفطـور عن الخمـج، وأوسـاط السل لعزل المتفطّرات السلية إن لزم الأمر. (قد نقوم بتثفيل عينة السائل للتحريات الجرثومية باللطاخات والزروع).

ـ إن الأوساط الجرثومية المنوالية التي ذكرت سابقاً يمكن استخدامها كذلك في زروع العينات الإحليلية والموثية (بعد تمسيد البروستات) وعينات عنق الرحم. (رَ: أخماج الاحليل بعد قليل).

الجراثيم المعزولة:

المـزدوجـات البُنيّة ـ العنقوديات ـ العقديات ـ أحياناً عصيات سلبية الغرام كالأنتروباكتر أو الكليبسيلة ـ عصيات السل...

عينات خمج الاحليل

Urethral Discharge

* مدخل سريري جرثومي :

الإحليـل هوالقنـاة الأخيرة السفلية من الجهاز البولي ويمتد من فوهة المثـانـة وحتى الصِـماخ . يكـون خمج الإحليل بشكل «خمج إحليلي سيلاني» Gonorrheal وهـو الـذي يترافق بنتحـة قيحيـة غزيـرة عفوية ، أوبشكل «لا سيلاني» يتميز بنتحة فقيرة لا تظهر إلا بتمسيد الإحليل وعصره . إن الجزء الأخـير من الاحليـل ـ وهـو الفـوهـة الظاهرة ـ يسمى بـ «صِماخ الإحليل» Urethral meatus وسنتعرّض لأخماج الإحليل وأسبابها عند الذكور والإناث مع خُطُوات تشخيصها .

أ ـ خمج الإحليل عند الذكور :

وأسبابه الرئيسية ثلاثة :

ا ـ **المـزدوجـات البنيـة** : Gonococcus وتسبب بإصـابتهـا الحـادة للإحليـل سيـلاناً قيحياً غزيراً ، حليبياً ، أوحليبياً مخضرّاً ، يترافق مع عُسْرة تبـوّل وتعـدد بيـلات مع حسّ حرقة شديدة مؤلمة ، وضجر، ويُلاحظ وجود سوابق ممارسة جنسية غير شرعية ولولمرة واحدة . تسمى **الإصابة الإحليلية بالبُنيّات بـ** : **السيلان أو التعقيبة**، وكافة الإصابات الجنسية التي تنتقل عن طريق الممارسات غير الشرعية تسمى **بالأمراض الزهرية** Venereal Diseas

ـ قد تتناول الإصابة عند الذكور: الإحليل والقناة الشرجية ـ والموثة «البروستات» وقد تتمادى باختلاطاتها إلى البَرْبَخ والأسهر (القناة المنوية الخارجة من الخصية) وغيرها، وهذا ما يفسر الإصابة بالعقم عند مرتكبها بسبب انسداد الأقنية.

التشخيص الجرثومي للسيلان بالبُنيات:

أ ـ اللطاخة المباشرة الملونة بتلوين غرام، أو بزرقة الميتيلين: وهي أوضح عادة: ونلاحظ في اللطاخة كريات قيحية غزيرة وقد غَزَتْها مزدوجات سلبية غرام «أي ضمن الكريات والخلايا» مع خلايا توسفية وكريات حمراء، ونشاهد أيضاً مزدوجات خارج الخلايا كل منها على شكل حبة البُن أو الكلية.

ب ـ الزرع: قد لا يُجرى في الإصابة الحادة الحديثة، ويتم زرع النجيج الإحليلي مباشرة على أوساط عزل البنيات (غراء شوكولاتي ـ وسط T.M) وتكون النتيجة إيجابية بنمو: مستعمرات نقطية، بيضاء رمادية مدورة، محيطها قد يكون غير منتظم، يزداد قطرها بعد ٢ ـ ٣ أيام لتغدو أكثر لزوجة وحجماً، ويمكن إجراء لطاخات ملونة للتأكد منها.

جـ ـ إيجابية الأوكسيداز: (رَ: بحث الأوساط والطرق) وهو يجرى على المستعمرات النامية.

٢ ـ المُتَدَثِّرات (الكلاميديا) : Chlamydia

وهي تسبب حوالي ٤٠ ـ ٥٠ ٪من حالات خمج الإحليل اللا سيلاني، وهي لا تنمو على المستنبتات الجرثومية، وإصابتها قد تكون زهرية. (رَ: الباب الثالث ـ الفصل الثالث).

ـ التشخيص الجرثومي:

أ ـ بالفحص المباشر: نشاهد كريات بيض قيحية دون وجود جراثيم ولا مُشَعَّرات ولا فطور،من نتحةٍ إحليلية لا تنبثق إلا بالتمسيد والعَصْر.

ب ـ الزرع الجرثومي: سلبي.

٣ ـ المُشَعَّرَات المَهْبلية: Trichomonas Vaginalis

وهي أيضاً تنتقل بالممارسات غير الشرعية مع شريك مصاب، وتسبب خمج الإحليل السيلاني أو اللا سيلاني.

ـ التشخيص الحيوي: على المفرزات الإحليلية أو الدفعة الأولى (٥ مل) من البيلة الصباحية الأولى.

أ ـ بالفحص المباشر العبيط: يلاحظ وجود كريات بيض قيحية وكريات حمر، مع كمية من الخلايا التوسفية، مع وجود طفيليات وحيدات خلية ذات سياط متحركة (طازجة) أو غير متحركة (قديمة) بحجم أكبر من الكرية البيضاء عادة مع ظهور حركة الغشاء المتموج (رَ: الطفيليات الطبية الجزء الأول).

ب ـ الزرع: إيجابي (بمشاركة جرثومية)، أوسلبي عقيم (إصابة طفيلية فقط دون مشاركة).

ب ـ خمج الإحليل عند الإناث :

تشمـل الإصـابـة عنـدهن عادة الإحليـل والمَهْبِـل وعُنُق الرحم، مما يسببّ ظهـور «الضـائعـات المهبليـة» وهي مفـرزات مرضيـة تختلف عن المفـرزات المخـاطيـة الطبيعيـة، بلونها ورائحتها وتركيبها والأعراض المرافقة لها، تتسبب الضائعات المهبلية الخمجية رئيسياً عن :

١ ـ المُزدوجات البُنيّة :

بالعـدوى من شريـك مصـاب، والضائعات هنا قيحية، وقد تكون مدمـاةً أيضـاً، وعنـد عَصـر عنق الـرحم بالمنظـار، تخرج نتحـة قيحية هي المفضلة للتشخيص الجرثـومي سواء بالفحص المباشر مع التلوين أو بالزرع على أوساط عزل البنيات.

يسبب خمج البنيـات عنـد النسـاء سيـلانـاً حاداً، ويترافق مع عسرة تبول وتعدد بيلات وزيادة في الضائعات المهبلية مع زحير شرجي مستقيمي (حس كبسـة)، وتشمـل الإصـابـة بالمـزدوجات البنية عندهن: الاحليل ـ باطن عنق الـرحم ـ غدة بارتـولـين ـ القنـاة الشـرجيـة ـ وقـد يتمادى الخمج باختلاطاته ليشمل البوقين والملحقات والحوض وغيرها . . .

أمـا الشكـل المـزمن فيكـون لا عرضيـاً، وهكـذا تصبـح المصـابـة «مستـودعـاً» لتوزيع البُنيّات لكل من يقترف مُباشَرَتَها دون أن تظهر عليها علامـات السيـلان. لكن الإصابة عندها قد تتمادى لتسبب انسداد البوقين وربما أدى إلى العقم.

٢ ـ المُشَعَّرات المُهْبلية:

وتسبب ضائعات مَهْبليّة قيحية غزيرة، رُغَوية، كريهة الرائحة، تترافق مع حس حرق، وشدّ أسفل البطن، وبالفحص المباشر للضائعات تظهر طفيليات وحيدات الخلية المتحركة بسياطها مع كريات بيضاء وحمراء. (رَ: الطفيليات الطبية ـ الجزء الأول).

٣ ـ المبيضات البيض:

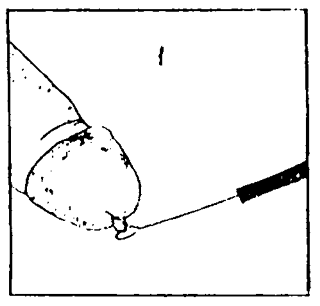
وتسبب ضائعات مَهْبلِيّة كثيفة لزجة، مع قطع لبنية الشكل، وعند فحصها نلاحظ إحتوائها على خيوط فطرية وخلايا فطرية متبرعمة مع خلايا ظهارية وكريات معتدلة. ويترافق ذلك مع حكة فرجية شديدة عادة، واحمرار المنطقة. تنمو المبيضات على أوساط زرع الفطور (سابورو) فيما إذا طلب لها الزرع الخاص.

٤ ـ الحُمات الراشحة:

وتسبب الحلأ البسيط الذي يتظاهر بتقرحات عنق الرحم، وطبعاً لا تنمو الحُمات على أوساط الزرع الجرثومية. (رَ: الباب الثالث ـ الفصل الأول).

٥ ـ وقد تشارك بعض المتدثرات (الكلاميديا) أو المفطورات (الميكوبلاسما) بذلك مسببة شكلاً من أشكال التهاب المهبل اللا نوعي، وهي لا تنمو على الأوساط الجرثومية العادية. (رَ: الباب الثالث)

أخذ النموذج من الرجل



الأفضل أن يؤخذ النموذج في الصباح الباكر، قبل أن يبول المريض. وينظّف صِمَاخُ الإحليل حين اللزوم بواسطة قطنةٍ مُبَلَّلةٍ بمحلول كلوريد الصوديوم المعقم.

يُضغط ضغطاً خفيفاً على القضيب بحيث تخرج من الصماخ قطرةٌ من القيح.

يؤخذ القيح بعُرْوَةٍ مُعَقَّمةٍ أو بوضع مباشرةً على شريحةٍ نظيفةٍ.

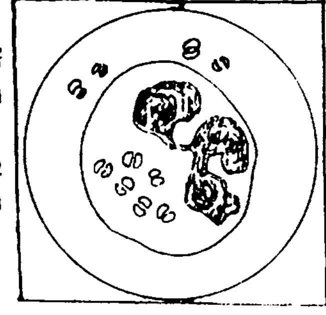
اذا لم يظهر قيحٌ تُدْخَل العروة المعقمة حوالي 2.5 سم في داخل قناة الإحليل للحصول على النموذج.

2

لطاخة فحص عبيط

لطاخة للتلوين

تُحضَّر لُطاختان بحيث:
- تكونان أرقّ ما يُمكِن
- تفرش إحداهما على أكبر مساحة ممكنة ثم تلوّن
- والثانية تغطى بساترة للفحص العبيط المباشر.



تُعْمَل لُطاخات من قيح الإحليل وتُلَوَّن بمُلَوِّن غرام. يمكن التعرُّف على المكوَّرات البنية بثلاث خصائص وهي:
1. مكورات مزدوجة كحبَّتَيِ البُنّ (أزواج)
2. سلبيَّة الغرام
3. داخِلَ الخلايا (داخل الكريات البيض).

الشكل (٤) أخذ عينات النجيج الإحليلي عند الرجل، ومعاملتها.

* أخذ العينات وفحصها :

في خمج الاحليل عند الرجال يوصى المريض بالمجيء إلى المختبر صباحاً بُعَيد الاستيقاظ مباشرة، وقبل أن يبول،حتى لا تنجرف المفرزات الاحليلية مع البول، ونصرُّ على هذا الشرط أكثر كلما قلَّت المفرزات، أما في حال الخمج السيلاني الغزير فلا يُشترط ذلك. ينظف الصماخ أو يمسح بمطهر مناسب، ثم يقوم المريض بتمسيد الإحليل وعصره بدءاً من جذره إلى الفوهة، وحالما تخرج المفرزات نأخذ من وسطها ـ لتجنب التلوث ـ بواسطة الغانة المعقمة.

أما عند النساء فيفضل أن يأخذ العينةَ الإختصاصيُ النسائي بنفسه، إذ تفضل عينة باطن عنق الرحم المأخوذة على ماسحة مبللة بوسط تكثير ملائم، وقد تؤخذ العينة عندهن أيضاً من صماخ الاحليل بعد عصره تؤخذ العينات على عدة مرات ليُجرى عليها عدة فحوصات كما يلي :

١ ـ الفحص العبيط :

يفضل استحلاب الأخيذة اللزجة بقطرة معقمة من المحلول الملحي الغريزي، ثم تغطى بساترة، ويفحص المحضر مباشرة. ونلاحظ فيه وجود : المُشَعَّرات المُهْبِلِيّة وحركتها ـ الخيوط الفطرية والخلايا الفطرية ـ الكريات البيض المعتدلة والكريات الحمر ـ الخلايا التوسفية، مع إعطاء تقدير عن كمية كل منها حال وجوده (رَ: كتابة التقرير الجرثومي).

٢ ـ الفحص مع التلوين :

ويجرى عادة تلوين غرام، وقد يفضل عليه التلوين بزرقة الميتيلين للوفلر، وذلك بعد تحضير اللطاخة بشكل نظامي كالعادة، (ر: القسم الأول)، وعند ظهور مزدوجات سلبية الغرام داخل الخلايا فإن هذا يُعد مميزاً للخمج البُنّي الحاد، أما في الخمج المزمن فقد لا تُكشف البنيات باللطاخة المباشرة، ولا بد عندها من إجراء الزرع الجرثومي الذي يُظهر وجود البنيات مع جراثيم مشاركة أخرى كالمكورات العنقودية، والتي تساهم في تعنيد الآفة على العلاج وإزمانها

- **تظهر المزدوجات البنية داخل هيولى الخلايا القيحية**

Intracellulary Diplococcus بل حتى داخل بعض الخلايا التوسفية، (غزو خلوي يعلل تعنيدها على العلاج وإزمانها ونكسها)، كما وتظهر في الخمج الحاد ـ وربما في المزمن-مزدوجات خارج الخلايا Extrecellulary Diplococcus وتكون كل مزدوجتين على شكل حبتي فاصولياء (كليتين) متقابلتين قطر كل منها ٠,٦ ← ١ ميكرومتر، منها الملونة بشدة ومنها الشاحب، ويمكن تأكيد التشخيص عند وجود الامكانات بتطبيق اختبار الأوكسيداز والتلوين المباشر بالأضداد النوعية المتألقة على اللطاخة (التألق المناعي المباشر واللا مباشر في مبحث المناعيات).

٣ ـ الزرع الجرثومي :

ويتم الزرع على : مرق مكثر، آغار ثاير مارتين T.M المُدَّفأ لحرارة الغرفة، والحاوي على مثبطات للجراثيم الأخرى لإتاحة المجال لنمو

المزدوجات، ومن الممكن استعمال الآغار المدمى المدفأ أو الآغار الشوكولاتي المدفأ أيضاً، ويتم الحضن بجو زائد الـ CO_2، وقد نمدد الفترة حتى ٤٨ ساعة لإظهار النمو بوضوح.

تنمو مستعمرات المزدوجات بقطر صغير وحتى ٣ ملم، مرتفعة قليلاً، رمادية اللون قاتمة، ومخاطية مطاطية تصعب تجزئتها، وقد تكون شفافة مع حواف غير منتظمة، وبعضٌ منها يُظهر خاصة الإنهضام الذاتي في المركز، إيجابية الأوكسيداز، وبالتلوين تظهر مزدوجات سلبية غرام.

* ملاحظات :

* قد يكفي **الفحص المباشر** لتشخيص خمج الإحليل السيلاني الحاد، ولكن لا بد من إضافة الزرع الجرثومي لتشخيص الشكل اللا سيلاني والشكل المزمن للخمج الذي قد يترافق مع جراثيم مشاركة أخرى.

* عند كشف المزدوجات **بالفحص المباشر**، يفضل دعم التشخيص بعزلها **بالزرع الجرثومي** أيضاً، وذلك لاستبعاد الإيجابيات الكاذبة، إذ قد تلتبس مع المزدوجات البنية بالفحص المباشر كل من: العُصَوَّرات سلبية الغرام (العصيات الصغيرة المكورة) ـ النايسيريات النزلية ـ أشباه الخانوقيات ـ المكورات العقدية والعنقودية التي فقدت لونها..

* في الحالات الحادة الحاوية على المزدوجات البنية لوحدها دون مشاركة معها، لا حاجة لإجراء التحسس الجرثومي، ويكفي الفحص المباشر الإيجابي لوحده لوضع التشخيص وتحديد المعالجة.

عينات البراز وزرعها
Stool cultur

* اعتبارات عامة :

يحوي البراز على نبيت جرثومي كثيف ومتنوع، بل إن جزءً هاماً من كتلة البراز تتشكل من الأحياء الدقيقة، إذ يحوي غرام واحد من البراز على ١٠^٨ ـ ١٠^١٠ جرثومة، وهذا مايضطرنا لاستخدام أوساط مثبطة بقوة لإيجابيات الغرام ومعظم سلبيات الغرام، وذلك لإتاحة الفرصة لعزل الجراثيم الممرضة فيه، والتي تشكل السلمونيلة ثم الشيغلة العاملان الأهم في بلادنا (رَ: الزمرة الجرثومية الطبيعية في القولون والأعور ـ القسم الأول ـ الباب الأول).

ـ يستطب زرع البراز في حالات معدودة منها :

١ ـ الإسهالات الجرثومية المعندة على العلاج :

خاصة عند الأطفال، ونستطيع تصنيف أهم العوامل الممرضة كما يلي :

* العوامل الشائعة : السلمونيلة (وخاصة في بلادنا) ـ الشيغلة ـ الحمات الراشحة المعوية Entero-Virus ـ الطفيليات : الزحار ـ الجيارديا اللامبيليا. (رَ: الطفيليات الطبية الجزء الأول من هذه السلسلة).

* العوامل الأقل شيوعاً : العنقوديات الذهبية ـ الإيشريكيات القولونية السامة للأمعاء E.T.E.C ـ المطثيات.

* **العوامل غير الشائعة ولكنها هامة : الزوائف ـ الهيضة بأنواعها (الكوليرا) ـ المُنحنيات Campylobacter .**

ونؤكد هنا على أن خمج السبيل الهضمي قد يكون بسبب جراثيم ممرضة، أو حمات راشحة، أو طفيليات ممرضة (جيارديا لامبيليا ـ المتحول الزحاري الحال للنسج ـ الديدان بأنواعها . .) أو فطوراً (كالمبيضات البيض)، وهذا ما يدلنا على ضرورة إجراء فحص البراز العياني والمجهري لكل عينة زرع.(رَ: الطفيليات الطبية ـ الجزء الأول) .

٢ ـ الإنسمامات الغذائية :

وعاملها الممرض الجرثوم ذاته، أو ذوفاناته Toxins ، وهذا الاستطباب قليل الأهمية في الممارسة الطبية العامة، ولعله ينحصر في المختبرات الرسمية للصحة العامة والأغذية .

ونذكر من الجراثيم التي قد تسبب انسماماً غذائياً : السلمونيلة ـ الشيغلة ـ العنقوديات ـ المطثيات .

٣ ـ تحري حالات «الحَمَلَة» : Carriers

وهم الأشخاص الذين يحملون جرثوماً ممرضاً دون أن تظهر عليهم أعراض المرض . تقبع السلمونيلة عادة في الحويصل الصفراوي عند الحَملة (وَلُوعة بالصفراء)، وتنطلق بدفقات مع البراز لتسبب العدوى من شخص لآخر .

تُجرى زروع الحملة عند عمال المطاعم والمخابز وبائعي العرقسوس في الشوارع والمحالّ.

العينة:

يوضع البراز في إناء نظيف وشفاف ويفضل أن يكون معقماً (أشكال جاهزة)، مع تجنب تلوثه بالبول خاصة عند الأطفال والمُقْعَدين؛ أما في حال الشك بالشيغلة فيفضل إجراء مسحة شرجية بعد تنظيف المنطقة جيداً، وباستعمال ماسحات قطنية معقمة جاهزة لهذا الغرض؛ يجب إجراء الفحص العياني والمجهري لكل عينة زرع براز، ونحدّد في ذلك الفحص المعلومات التالية:

* قوام البراز: سائل مائع ـ لينّ عجيني ـ عادي ـ قاسي . .

* اللون: مدمى ـ أسود زفتي ـ أبيض حَوّاري . .

* وجود الأجزاء المرضية المرافقة: قيح ـ مخاط ـ دم ـ قطع ديدان ـ ديدان كهلة ـ حبيبات بيضاء تشبه الأرز في براز مائي «الاسهال الرّزّي».

* وبالمجهر نلاحظ وجود الطفيليات الممرضة أكياساً ومتحولات، وبيوضاً ويرقات، مع ملاحظة وجود الكريات الحمراء إن أمكن، والكريات البيضاء التي تدل على حدوث غزوٍ لمخاطية الأمعاء من قبل العامل الممرض أو على تخريش لها أو تنخُّر فيها (راجع الجزء الأول عن الطفيليات وفحص البراز من هذه السلسلة).

العمل :

- لا يجوز حفظ عينة البراز بالبراد أو بالمحضنة ، بل يجب مباشرة العمل بها حال إخراجها ، فنختار الأجزاء المشبوهة الحاوية على المخاط أو القيح أو الدم للزرع الجرثومي وللفحوصات المباشرة .

- يستطب إجراء لطاخات مباشرة للبراز بتلوين غرام في حال الشك بأي مما يلي : العنقوديات ـ المبيضات البيض ـ الضَمّات أو المُنحنيات (راجع طريقة غرام) .

الزرع :

لتحقيق الهدف الأصلي من زرع البراز وهو عزل الجراثيم الممرضة (السلمونيلة ثم الشيغلة) من بين خليط جرثومي كثيف ومتنوع ، نقوم بالزرع على عدة مراحل كما يلي :

١ ـ الزرع البدئي : Primary culture

ونزرع أخيذات نظامية من البراز الطازج على الأوساط التالية :

أ ـ مرق السيلينيت أو مرق الـ GN بشروطهما (راجع العمل في مبحث الأوساط والطرق ـ القسم الأول) .

ب ـ آغار ناخب شديد ينهي نمو إيجابيات الغرام وبعض سلبيات الغرام مثل : آغار S.S ، أو هيكتون Hektoen أو DCLS ، مع مراعاة الفَرْش الجيد على كامل سطح الآغار .

جـ ـ آغار ناخب متوسط لسلبيات الغرام : مثل آغار ماكونكي ، لتمييز

مجموعة العصيات إيجابية اللاكتوز من زمرة العصيات القولونية الشكل Coliforms ، عن غيرها بوضوح أكبر ، وقد نستعمل بدلاً منه آغار الـ E.M.B أو آغار إندو، ونراعي هنا أيضاً تحقيق نشرٍ جيد للأخيذة على كامل الآغار (ر: الأوساط والطرق: القسم الأول).

د ـ أوساط خاصة تضاف وفق الحاجة:

١ ـ آغار غول فينيل الإيتيل الدموي الذي يثبط نمو سلبيات الغرام ويسمح بنمو المكورات إيجابية الغرام وبعض الخمائر، ومن الممكن أن نستخدم الآغار المدمى أو آغار شابمان.

٢ ـ آغار الفطور مثل آغار Fungisel للمبيضات البيض.

٣ ـ في حال الشك بضمات الكوليرا نزرع البراز على المرق الهضموني القلوي ، ويحضن لمدة ٣ ـ ٧ ساعات، ثم يُنقل ثانية إلى أنبوب جديد من المرق الهضموني القلوي ويحضن لنفس المدة وربما نكرر لمرة ثالثة، ومن ثم ننقل أخيذة منه إلى آغار TCBS قلوي (PH = ٨,٦) فتنمو عليه مستعمرات الكوليرا بلون أصفر وبحجم كبير واضح (من أعمال مخابر الصحة العامة والأوبئة).

● تُحضن الأوساط السابقة بالحرارة ٣٧° م ولمدة ١٤ ـ ١٨ ساعة، ومن ثم نلاحظ بدقة وأناة، وباستعمال مكبرة إن لزم، المستعمرات سلبية اللاكتوز (وما يهمنا منها خاصة السلمونيلة ثم الشيغلة) ونتعامل معها كما في الزرع الثانوي، أما إيجابيات اللاكتوز، فتُهمل في الزروع المتوالية.

٢ ـ الزرع الثانوي: Secondary Cultur

نزرع أخيـذاتٍ من طافي مرق السيلينيت (أو الـGN) السـابق على الأوساط التالية:

آغـار S.S (أو هيكتـون) ـ آغـار ماكـونكي (أو E.M.B أو إندو. . .) ـ وعنـد الشـك بالسلمـونيلة التيفية ينصح باستخدام آغار كبريتيت البزموت (Bismuth Sulfit) B.S أيضـاً، إذ تنمـو عليـه مستعمـرات السلمونيلة التيفية بلون أسـود مع لمعـة معـدنيـة مميـزة، في حين تنمو باقي السلمونيلات على شكل مستعمرات سوداء دون لمعة، أو خضراء.

ـ وقـد نضـيـف للمـجـمـوع الـسـابـق آغـار: (Xylose-lysine-Desoxycolat-A) XLD .

● نتعـامـل مع المستعمـرات سلبيـة اللاكتـوز لكشف السلمونيلة أو الشيغلة في بلادنـا، وذلـك بأن نزرع المستعمـرة المشبـوهـة على وسـط البـولـة-إنـدول، ونجـري اختبـار الحـركـة لها (معظم ذراري الشيغلة غير متحـركـة)، وقـد نستخـدم أوسـاطـاً تفـريقية أخرى كوسط KCN وسيمون سيترات ـ وكليغلر...

ـ تُحدث المتقلبات إيجابية البولاز بعد ٢ ـ ٤ ساعات، وإيجابية الإندول خلال ١٨ ـ ٢٤ ساعـة من الـزرع؛ في حين أن المستعمرات سلبية اللاكتوز والبولة والإندول مع ظهور عصيات متحركة ومُطْلِقة لكميات قليلة من H2S أو غير مطلقة له، يوجهنا نحو وجود السلمونيلة؛ ونجزم بالتشخيص بتطبيق التنميـط المصـلي النوعي على مستعمرة معزولة طازجة (مصل عديد القُوَى

للسلمونيلات) (ر: التنميط المصلي، القسم الأول).

ـ أما إذا كان الجرثوم عصيات ثابتة، سلبي اللاكتوز والبولة والإندول ولا يطلق H2S ، فنميل نحو الشيغلّة، ونجزم بالتشخيص بتطبيق التنميط المصلي النوعي لذراري الشيغلّة على مستعمرة معزولة طازجة (مصل عديد القُوى للشيغلات).

ـ وعند معرفة نوع الجرثوم الممرض نجري له التحسس للصادات الحيوية المنتقاة.

ـ وعموماً نختار أوساط الزرع بما يتناسب مع الجرثوم المشكوك به، وقد لا نحصل على نتيجة أكيدة، فنلجأ لتكرار الزرع.

١ ـ لاحظ أنه في الزرع البدئي أخذنا الأخيذات من البراز مباشرة، وفي الزرع الثانوي من طافي السيلينيت.

٢ ـ لاحظ أننا نستغرق من ٢ ـ ٤ أيام للحصول على تقرير زرع البراز مع التحسس.

زرع الدم
Blood cultur

* إعتبارات عامة :

هناك العديد من العُضَيَّات التي تسبب تجرثماً دموياً، ويبقى زرع الدم الوسيلة الفُضلى: لعزل الجرثوم الممرض، ولمعرفة نموذج تحسسه للصادات الحيوية الملائمة، وتصل إيجابية زرع الدم بشروطه النظامية إلى حوالي ٩٠٪ من الحالات. غير أن شروطه دقيقة ومُكْلِفة، ومدته طويلة وهذا ما يخفض من إيجابيته في بلادنا للأسف.

ـ دم الإنسان محفوظ بإمكانيات فعَّالة لإزالة الجراثيم منه بسرعة، سواء بوجود الخلايا البالعة بأنواعها، أو بالأضداد النوعية، مع العوامل المناعية والحيوية الأخرى المتنوعة، لذلك نلاحظ أن الجرثوم الذي نريد عزله من الدم يكون مُنْهَكاً ضَنِكاً، وقليل العدد، وهذا ما ينعكس على اختيار الأوساط الزرعية التي يجب أن نستخدمها لهذا الغرض، وسنلاحظ معاً أنها أوساط غنية بإمكاناتها للإنماء، ومتعددة، والحجوم كبيرة، مع كميات دم كبيرة للزرع عليها، كما أننا نحضن الزروع لفترات طويلة: أي أننا نقدم كل فرصة ممكنة لإتاحة النمو والتكاثر للجرثوم المعزول، كماً ونوعاً.

ـ يحدث تجرثم الدم Septicemia بشكله المستمر في حالات سريرية خاصة، كما هو الحال: في التهاب شَغَاف القلب الحاد بالعِقْديات، وعندها

تهيمن على المريض أعراض تجرثم الدم السريرية. أما تجرثم الدم المؤقت فهو الأكثر شيوعاً في سياق الأخماج، إذ قد يحدث ذلك خلال سير أي خمج جرثومي لبؤرة ما في الجسم، مثل: التهاب اللوزات القيحي الحاد ـ ذات الرئة الجرثومية الحادة ـ الطور البدئي من الحمى التيفية ـ عصر دمّل غير ناضج ـ التهاب الأذن الوسطى القيحي الحاد... وعندما تنفلت دفعة من العصيات الحية إلى مجرى الدم من بؤرة مخموجة ما، فإن المريض قد يعاني من الحمى والعرواءات، وعادة ما يتأخر ظهورها لفترة ٣٠ ـ ٦٠ دقيقة، وأثناء هذه الفترة يحتدم الصراع ويُزال الجرثوم من الدم الجائل، وهكذا: فقد يكون زرع الدم أثناء الحمى أو العرواء سلبياً، وهذا ما يدلنا على أهمية اختيار الوقت الملائم عند سحب عينة الزرع.

ـ نستخدم لقطف عينات الدم، **المحاقن والإبر النبوزة** Disposable Syringes ويجب أن لا نستخدم غيرها. تُدفأ أوساط الزرع بالدرجة ٣٧° م قبل زرعها، ثم يسحب الدم من أحد أوردة الحفرة المرفقية عادة ويفضل الوريد القاعدي ويجب أن تشكل كمية الدم المسحوبة ما مجموعه حوالي ١٠٪ من كمية أوساط الزرع مجتمعة.

ـ نتحرى قطف عينة الدم قبيل ارتفاع الحرارة أو حدوث العرواء المتوقعين ما أمكن ذلك، ونسحب ٣ ـ ٤ عينات للزرع بفاصلة ٢ إلى ٤ ساعات بين العينة والأخرى وبشكل عقيم تماماً، ونعيد التأكيد هنا على وجوب امتناع المريض عن تناول أية أدوية مؤثرة على الجراثيم خلال ٧ ـ ١٠ أيام سابقة لقطف الدم على الأقل.

* الأوساط المستخدمة لزرع الدم البدئي :

: وهي أوساط سائلة غنية عموماً، يُنتقى منها ٢ ـ ٣ أوساط وفق الحاجة، ونستخدم ٥٠ ـ ٧٠ ـ ١٥٠ مل مِنْ كلٍ منها على الأقل كوسط للزرع، ويضاف الدم لها بنسبة ١٠٪ لكل وسط زرعي، وهي :

١ ـ **المرق المغذي مع الغلوكوز أو مرق التريبكاز ـ صويا** (يحوي الببتون مع فول الصويا) وقد يضاف إليهما مانع للتخثر، وهما وسطان غنيان، ويدعمان نمو أغلب الجراثيم الهوائية الشائعة في الأمراض.

٢ ـ **مرق التيوغليكولات**: للجراثيم الهوائية واللا هوائية، وقد لا تنمو عليه ـ كما لوحظ ـ الجراثيم التالية: الزوائف ـ النايسيريات ـ محبات الدم.

٣ ـ عند الشك بسلبيات الغرام وخاصة منها عائلة الأمعائيات (ومنها السلمونيلات)، **يفضل استخدام وسط ماكونكي السائل** (يحوي الصفراء).

* العمل :

ـ يجب أن يكون قطف العينة عقيماً كلياً، فنمسح الجلد فوق الوريد المطلوب بصبغة اليود (اليود الغَوْلي) وعند جفافها تماماً نعيد المسح ثانية بالغول ٩٥٪، نضع العاصبة Garrot على عَضُد المريضْ فوق الوريد بكفاية، تُدخل الإبراة بالوضعية المناسبة النظامية داخل الوريد، ونسحب بلطف كمية من الدم تكفي لأوساط الزرع المراد استخدامها (عادة ١٠ ـ ٢٠ مل دم)، تُحل العاصبة وتسحب الإبرة بحركة واحدة سريعة، وتغطى

منطقة البزل بشاش جاف معقم مباشرة، نضيف الدم إلى أوساط الزرع بهدوء وأناة مع الحذر التام من حدوث أي تلوث، تمزج كافة الأوساط المزروعة بهدوء، وتحضن بالدرجة ٣٧° م مع جو زائد من الـ CO_2 .

ـ يفحص المرق صباحاً، كل يوم، وفي حال عدم وجود أي عكر يمزج الوسط ثانية كل يومين، أما عند ظهور أي عكر في طافي المرق، فإننا ننقل أخيذات Subcultur منه بالغانة (أو بالزرّاقات المعقمة بالزروع اللا هوائية)، ونزرعها على **الأوساط الصلبة** التالية للتعرف على الجرثوم (الزرع الثانوي): آغار مدمى ـ آغار شوكولاتي ـ آغار ناخب لسلبيات غرام (E.M.B أو ماكونكي) ـ أوساط خاصة أخرى وفق التوجه السريري والمختبري، . . . كما ننقل أخيذات أخرى لتحضير لطاخات ملونة بطريقة غرام.

ـ وفق نتائج لطاخات غرام، نُعْلِم الطبيبَ المعالج عن نتيجة الزرع البدئي بتقرير جرثومي أولي (نمو المكورات العنقودية ـ أو نمو مزدوجات سلبية غرام مثلاً) حتى قبل أن يتم التعرف الكامل، وذلك ليُصار إلى معالجة المريض مبدئياً ريثما تنتهي اختبارات التعرف والتحسس الدوائي.

ـ عند عدم حصول أي عكر، نمزج الأوساط كل يومين، ونستمر بالحضن لفترة تتراوح بين ١١ ـ ٢١ يوماً للسلمونيلات (عامل الحمى التيفية)، وقد نستمر لمدة ٣٠ يوماً للبروسيلات (عامل الحمى المالطية) حتى نستطيع الجزم بأن الزرع سلبي، وعند عزل الجرثوم الممرض والتعرف عليه نقوم بإجراء التحسس الدوائي للصادات المناسبة له.

* التقييم :

عادة ما يظهر الجرثوم الممرض ذاته في كافة أوساط الزرع المستخدمة أو في أغلبها، أما إذا ظهر النمو في زجاجة واحدة فقط دون الباقيات، فإن هذا قد يوجه نحو حدوث التلوث الخارجي وخاصة من مرحلة بزل عينة الدم.

* الجراثيم المعزولة من زروع الدم المرضية :

العنقوديات ـ جراثيم سلبية الغرام : وأهمها السلمونيلة التيفية والبرسيلة المالطية والإيشريكيات القَولُونية ـ العقديات الحالّة ∝ والعقديات البرازية D (أو الهضمية) ـ العقديات الرئوية ـ النايسيريات السحائية ـ المطثيات الحاطمة . . . علماً أن هناك عصيات لا تنمو إلا بالزرع اللا هوائي هي : العقديات اللا هوائية ـ المطثيات ـ الفطور الشعاعية ـ العصوانيات.

ملاحظة :

قامت شركات الأوساط الجرثومية بتحضير مجموعة من الأوساط الجاهزة لزروع الدم ضمن زجاجات خاصة،يتألف الوسط الزرعي لكل منها من قسمين : سائل «مرق» وصلب «آغار» معاً في نفس الزجاجة المغلقة بسدادة «طاطية محكمة أو بجزأين منفصلين، وهناك مجازة خاصة لقطف عينة الدم، قوامها من اللدائن الطرية المعقمة، تحوي رأس إبرة في كل قطب لها، لتصل مباشرة بين مجرى الدم لدى المريض وبين الوسط الزرعي الجاهز سلفاً، دون أي تماس للدم المقطوف مع الجو الخارجي . تمتاز

هذه الأوساط بأنها تقدم لنا الجو الملائم للحضن الذي نختاره، وهو جو الزجاجة:كأن يكون جو الزجاجة خالٍ من الأوكسجين مطلقاً للزرع اللا هوائي، أو قليل الأوكسجين أو زائد الـ CO_2، كما أن هذه الأوساط سهلة الاستعمال وتقلل كثيراً من احتمال التلوث، ومشكلتها ارتفاع ثمنها واستيرادها جاهزة.

من أمثلة هذه الجمل الجاهزة:

- جملة كاستانيدا «Castañeda System» للكهول وللأطفال لمختلف أنواع الزروع الهوائية واللا هوائية . . .
- جملة روش Roch . . . وغيرها كثير . .

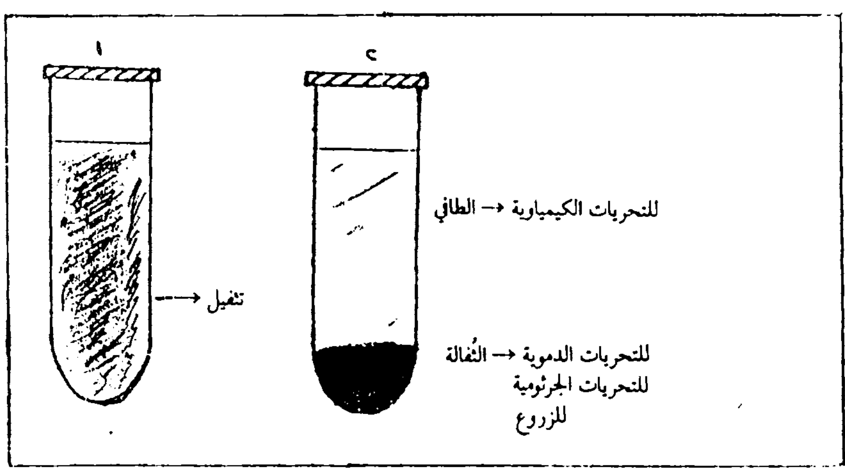
عينات السائل النُخاعي وسوائل الأجواف المصلية

Cultur of Serous and Cerebrospinal Fluids

نقصد بسوائل الأجواف المصلية: سائل الجَنب - سائل الحَبَن - السائل المفصلي - سائل التأمور.

- تميل سوائل الأجواف المصلية نحو التخثر لاحتوائها على مولد الليفين Fibrinogen ، لذلك يقوم المختبر بتحضير أنابيب معقمة، ذات أغطية ملولبة، تحوي على مانع تخثر معقم (حماضات أو سيترات أو هيبارين)؛ وبعد بزل العينة بشكل عقيم، تُسكب في الأنبوب ثم تمزج جيداً مباشرة، ثم تُثفَّل بسرعة ٣٠٠٠ دورة / دقيقة لمدة ١٥ - ٢٠ دقيقة ومن ثَمّ:

- نستعمل السائل الطافي الناتج من تثفيل سوائل الأجواف المصلية أو



الشكل (٥): مخطط العمل لعينات السوائل الحيوية: عينة سائل حيوي في أنبوب معقم.

تثفيل السائل النخاعي لإجراء المعايرة الكيمياوية المطلوبة، أما الثفالة المركزة الناتجة فنستعملها للتحريات الدموية، وكذلك للتحريات الجرثومية (لطاخات مباشرة ـ زروع).

• تُجرى على السائل الحيوي الفحوصات التالية:

ـ أ ـ **الفحص الفيزيائي**: اللون ـ المظهر ـ اللزوجة ـ الـ PH .

ب ـ **الفحص الكيمياوي**: سكر ـ آحين ـ خمائر ـ كلور. .

جـ ـ **الفحص المجهري الدموي**: للكريات البيضاء والحمراء: (رَ: الجزء التالي عن تحليل البول والسوائل الحيوية).

د ـ **الفحص الجرثومي**: يجب مراعاة إنجاز فحوصات السائل النخاعي خاصة بالسرعة القصوى مخافة تلف الجراثيم الهشة Fragil الممرضة فيه (السحائيات ـ الرئويات . .).

ـ من **ثُفالة السائل** المبزول الناتجة نقوم بإجراء:

١ ـ **اللطاخات الجرثومية**: وتلوّن بطريقة غرام أو بزرقة المتيلين أو بالتلوين المقاوم للحمض (تسيل نلسون أو كينيون) ويُعْلَم الطبيب مباشرة عن أي **جرثوم يشاهد**.

٢ ـ الزرع الجرثومي المنوالي: إذ تزرع الثُفالة على الأوساط التالية: مرق التريبكاز صويا ـ مرق التيوغليكولات ـ آغار T.M ـ آغار شوكولاتي ـ آغار مدمى ـ وسط ناخب لسلبيات الغرام (E.M.B مثلاً).

ـ تُحضن الأوساط بجو زائد الـ CO_2 (٥ ـ ١٠٪) لمدة ٢٤ ـ ٧٢ ساعة لتحري نمو الجراثيم الهشة (كالنايسيريات والمستدميات).

تضـاف الأوسـاط الخـاصة حسب فحص اللطاخة المباشرة أو بتوجيه لطبيب المعالج.

٣ ـ الزرع السلي: عند الطلب، ونزرع من الثفالة على مرق 7H-9 ، وآغار لوفنشتـاين جونسـون المعـدل، ونحضن لعـدة أسابيع (رَ: وسط لوفنشتاين جونسون القسم الأول).

الجراثيم المعزولة:

العِقْـديـات ـ العُنْقـوديـات ـ العقـديـات الـرئـويـة ـ النَـايسـير يّـات السِحَـائية والبُنية ـ الكليبسيلّة ـ المُسْتدميات النّزلية ـ بعض الفطور ـ المتفطرات السلّية. . .

الباب الثاني

الفصل الأول: المعالجة الكيمياوية المضادة للجراثيم:

الصادات الحيوية والسلفا: تصنيفها - آليات تأثيرها.

الفصل الثاني: اختبارات تحسس الجراثيم للصادات الحيوية وطرق إجرائها.

الفصل الأول
المعالجة الكيمياوية المضادة للجراثيم
Antimicrobial Chemotherapy

مقدمة ومدخل :

في أواخر القرن الثامن عشر، أراد العالم الكيميائي الألماني بول إيرليخ في سياق تجاربه بالمختبر، البحث عن مواد كيماوية قادرة على تخريب العضيات الممرضة دون أن تؤذي خلايا الإنسان، وهذا هو المبدأ الأساسي في المعالجة الكيماوية، وبعد أبحاث دؤوبة وطويلة، وفي المحاولة رقم ٦٠٦ توصل إيرليخ إلى مركب زرنيخي فعّال في علاج مرض الإفرنجي (السفلس) سمّاه بالمادة ٦٠٦، وهي نفسها مادة Salvarsan لعلاج الإفرنجي، وهذا ما شجع الكثيرين للتجربة والبحث في آلاف المواد الكيماوية عَلّ بعضها يُظهر خواصاً مضادة للأحياء الدقيقة الممرضة . . .

في عام ١٩٢٨ لاحظ السير ألكسندر فلمينغ S.A.Fleming أثناء تعامله مع مستعمرات للمكورات العِقْدِيّة أن جُزْءًا من تلك المستعمرات الذي تلوث بفطر العفن Penicillium Notatum قد توقف نموه، فسمّى تلك المادة المضادة للجراثيم بـ «البنسيلين»، وبعد عدة تجارب ومحاولات متكررة تم الحصول على البنسيلين النقي للعلاج عام ١٩٤٢ خلال سني الحرب .

وفي عام ١٩٣٢ أعلن العالم الكيماوي الألماني جيرارد دوماج أن صبغة "البر ونتوسيل الحمراء" مادة فعّالة لعلاج الكثير من الآفات الجرثومية وتبين فيما بعد أن هذه المادة تتحول في الجسم إلى مشتق لا لون له هو "السلفانيلاميد" Sulfanilamid وهو المادة الفعالية المضادة للجراثيم.

ثم اكتشف الأكتينومايسين من الفطور الشعاعية الموجودة في التربة، وسرعان ما ظهر الستر بتومايسين الفعّال في علاج العصيات السلية وغيرها؛ ومن ثم تتابعت سلسلة الإكتشافات على أيدي العلماء والأطباء هنا وهناك، وترسّخ مع الزمن مفهوم المعالجة الكيماوية للعُضَيّات الدقيقة Micro-organism، تلك المعالجة التي تُحدث سمية نوعية ضد تلك العضيات دون أن تحدث ضرراً فادحاً في جسم المُضيف (المريض)، ومردّ هذه النوعية في السمية الخلوية وجود مستقبلات خاصة لتلك الأدوية الكيماوية على جدار الخلية الجرثومية، في حين أننا لا نجد مثل تلك المستقبلات على جدار الخلية الإنسانية أو الحيوانية، وهذا هو الفرق الرئيسي بين السّلفوناميدات والصادات الحيوية من جهة وبين المطهرات من جهة مقابلة، الأمر الذي يفسر لنا حصر إستعمال المطهرات بالتطبيقات الخارجية فقط (الجلد).

• فالصادات الحيوية إذن: هي عوامل كيماوية طبيعية (مثل البنسيلين) أو تركيبية (مثل السلفا) أو نصف تركيبية (أمبيسيلين) تمتاز بتأثير قاتل للجراثيم أو مؤقف لتكاثرها ونموها مع تأثيرات جانبية مقبولة عموماً على جسم المضيف.

• إن الصادّات الحيوية ومركبات السلفا غير فعّالة في أخماج الحمات الراشحة التنفسية والجلدية . . .

تصنيف العوامل الكيماوية المضادة للجراثيم :

يتم التصنيف وفق عدة معايير كما يلي :

أولاً ـ التصنيف وفق البنية الكيماوية (الزمر الدوائية) :

آ ـ **زمرة البنسيلينات :** أبسطها البنسلين ج بأنواعه ـ الأمبيسيلين ـ الأموكسيسيلين ـ كاربنسيلين ـ كلوكساسيلين ودي كلوكساسيلين (مقاومان لخميرة البنسيليناز العنقودية) . . .

ب ـ **زمرة السيفالوسبورينات :** مثل سيفالوثين ـ سيفالكسين ـ سيفاردين ـ سيفالوريدين ـ سيفازولين . . .

جـ ـ **زمرة الأمينوغليكوزيدات :** كاناميسين ـ جنتاميسين ـ توبراميسين ـ سيزوميسين ـ أميكاسين ـ ستربتوميسين ـ نيوميسين . . .

د ـ **زمرة التيتراسيكلينات :** كلورتيتراسيكلين ـ أوكسي تيتراسيكلين ـ دوكسي سيكلين . . .

هـ ـ **زمرة الماكرولايدات :** الإريترومايسين ـ لنكومايسين ـ كليندامايسين ...

و ـ **زمرة متفرقة :** كلورامفينيكول ـ البولي ميكسينات (الكوليستين) ـ فانكوميسين . . .

ز ـ **زمرة السلفوناميدات :** بأنواعها مع الكوتريموكسازول . . .

ح ـ عوامل خاصة بالأخماج البولية: (وعادة ما تطبق على العصيات سلبية الغرام)، النايتر وفورانتوئين ـ ناليديكسيك أسيد ـ بيبي ميديك أسيد ـ الكوتريموكسازول ـ أوكسولينيك أسيد...

ط ـ العوامل المضادة للعصيات السلية: إيزونيازيد ـ إيثامبوتول ـ ريفامبيسين ـ P.A.S ...

ي ـ العوامل المضادة للفطور: الأمفوتيريسين ب ـ النيستاتين ـ الكريزوفولفين...

ثانياً: التصنيف وفق التأثير القاتل للجراثيم أو الموقف للنمو:

أ ـ العوامل القاتلة للجراثيم: زمرة البنسيلينات ـ ز. السيفالوسبورينات ـ ز. الأمينوغليكوزيدات ـ الفانكوميسين ـ البولي ميكسين ـ ناتير وفورانتوئين ـ الكوتريموكسازول...

ب ـ العوامل المثبطة لنمو الجراثيم: ز. التيتراسيكلينات ـ ز. السلفوناميدات ـ الكورامفينيكول ـ ز. الماكرولايدات...

ثالثاً: التصنيف وفق التأثير على إيجابيات الغرام وسلبياته:

آ ـ الصادات المؤثرة على الجراثيم إيجابية الغرام (غالباً): البنسيلين ج ـ كلوكساسيللين وأشباهه ـ ز. الماكرولايدات ـ سبيراميسين ـ ڤانكوميسين...

ب ـ الصادات المؤثرة على الجراثيم سلبية الغرام (غالباً): ز. الأمينوغليكوزيدات ـ بولي ميكسينات ـ ناتير وفورانتوئين (بالبول) ـ ناليديكسيك أسيد (بالبول) ـ بيبي ميديك أسيد (بالبول)...

جـ ـ الصادات موسّعة الطيف (المشتركة) : أمبيسيلين ـ أموكسيسيلين ـ كاربنسيلين ـ ز. السيفالوسبوريتات ـ ز. التيتراسيكلينات ـ الكلورامفينيكول ـ كوتريموكسازول. . ومن الممكن استخدام بعض أنواع زمرة الأمينوغليكوزيدات أحياناً . . .

رابعاً: التصنيف وفق آلية التأثير على الجرثوم:

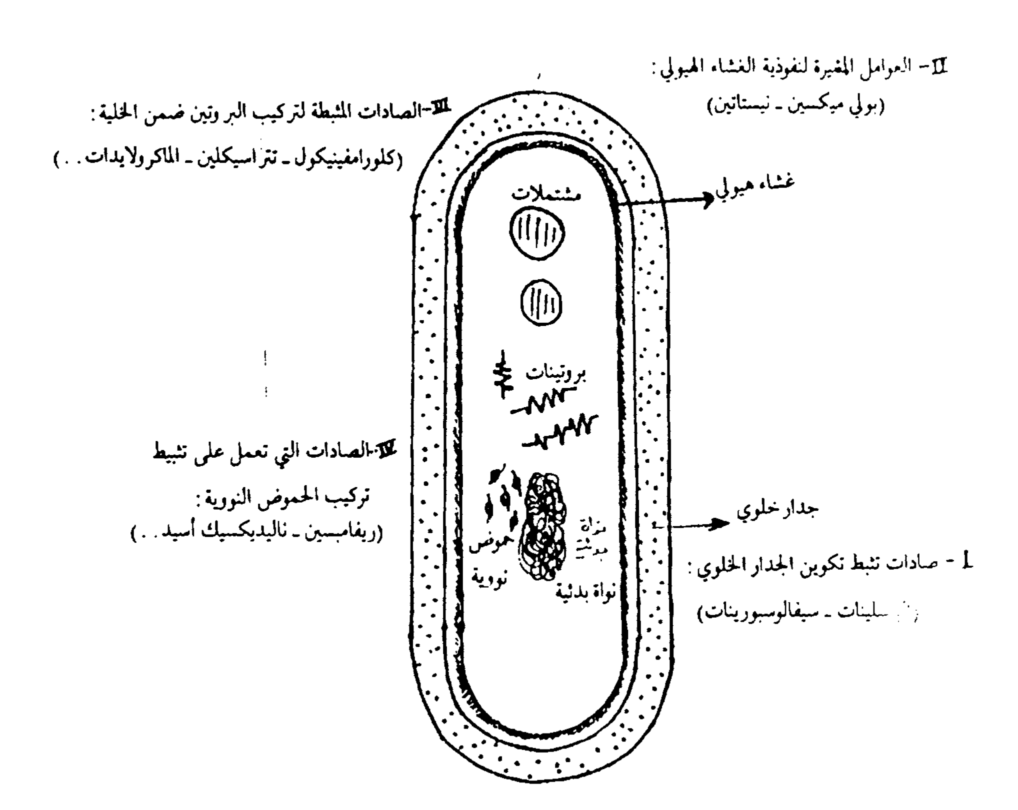
أ ـ الصادات التي تثبط تكوين الجدار الخلوي للخلية الجرثومية : البنسيلينات-سيفالوسبورينات ـ ڤانكوميسين ـ نوڤوبيوسين ـ باستيراسين. . .

ب ـ العوامل التي تعمل على تغيير نفوذية الغشاء الهيولي : البولي ميكسينات (الكوليستين) ـ نيستاتين ـ الأمفوتيريسين ب . . .

جـ ـ الصادات التي تعمل على تثبيط تركيب البروتين ضمن الخلية : كلورامفينكول ـ ز. التيتراسيكلينات ـ ز. الأمينوغليكوزيدات ـ الماكرولايدات ـ فوسيديك أسيد. . .

د ـ الصادات التي تعمل على تثبيط تركيب الحموض النووية : ريفامبيسين ـ إيثامبوتول ـ ناليديكسيك أسيد ـ أكتينومايسين ـ كريزوفولفين. .

هـ ـ صادات تحل محل بعض العناصر الإستقلابية الهامة : (مثل الفوليك أسيد) للخلية الجرثومية ، لتشابهها معها ومن ثم تثبط إصطناع مواد هامة لاستقلاب الخلية الجرثومية (تثبيط تنافسي) : مثل السلفوناميدات ـ كوتريموكسازول ـ P.A.S ـ إيزونيازيد. . .



V- صادات تحل محل بعض العناصر الاستقلابية الهامة :

(السلفوناميدات - كوتريموكسازول - إيزونيازيد . .)

الشكل (٦) : آليات تأثير الصادات الحيوية والسلفا على الخلية الجرثومية

• ولعل مُجْمَل هذه التصنيفات الأربعة يعطينا فكرة عن خصائص الصادات الحيوية والسلفوناميدات، علماً أن لكل دواء حرائكه السريرية الخاصة به، وأقصد بالحرائك السريرية: طريقة إعطاء الدواء المثلى (بالفم - بالحقن الوريدي أو العضلي أو تحت الجلد. . .) وإمتصاصه، وتراكيزه الفعّالة في الدم وتوزّعه في باقي المفرزات، مع الزمن اللازم للوصول لتلك التراكيز - مقاديره المرتبطة بالدم والحرة وثباته في الجسم بشكله الفعال - طرق إزالة السميّة في الكبد - الجرعات اللازمة للمحافظة على تركيزه الفعال - آثاره الجانبية على باقي الأجهزة - تراكيزه السمية - إطراحه الكلوي إلخ. . . وهذه كلها من مهمات الطبيب المعالج؛ أما بالنسبة لنا في مختبر الجراثيم الطبية فإنه يجب علينا إنتقاء مجموعة الصادات الحيوية (أقراص التحسس) الملائمة لنوع الجرثوم المعزول، ولمكان الخمج وهذا ما سنوضحه أكثر بعد قليل.

الفصل الثاني

إختبارات تحسس الجراثيم للصادّات الحيوية

Antibiogram (Antibiotic Sensitivity)

بعد كل عملية زرع لعينة جرثومية، يتم فيها عزل جرثوم ممرض، لا بدّ من معرفة العوامل الكيماوية التي تقضي على الجرثوم حتى يتم علاجه بالأدوية المناسبة سريرياً.

تُطبّق على كل جرثوم مجموعة من الصادات الحيوية المناسبة، ونعبّر عن النتائج كما يلي:

- الجرثوم يتحسس جيداً على صاد حيوي معين Sensitive بالرمز S : أي من المتوقع تثبط الجرثوم المرض بواسطة هذه الصادة.

- الجرثوم مقاوم للصاد الحيوي (لا يتحسس) Resistant : بالرمز R : أي من المتوقع أن الجرثوم الممرض مقاوم لتأثير هذه الصادة.

- الجرثوم يتحسس بشكل جزئي للصاد الحيوي Intermediate بالرمز I : وهذا محل خلاف في استخدام الدواء أم لا، ولكي نجزم بفائدة الصادة المختبرة نلجأ لطريقة التمديد بالأنابيب كما سيأتي.

- غالباً ما يهتم الطبيب المعالج بالصادّة التي تقضي على الجرثوم بشكل فعّال (متحسس S) وقد يُشرك أكثر من نوع واحد من الصادات في بعض من معالجاته فقط.

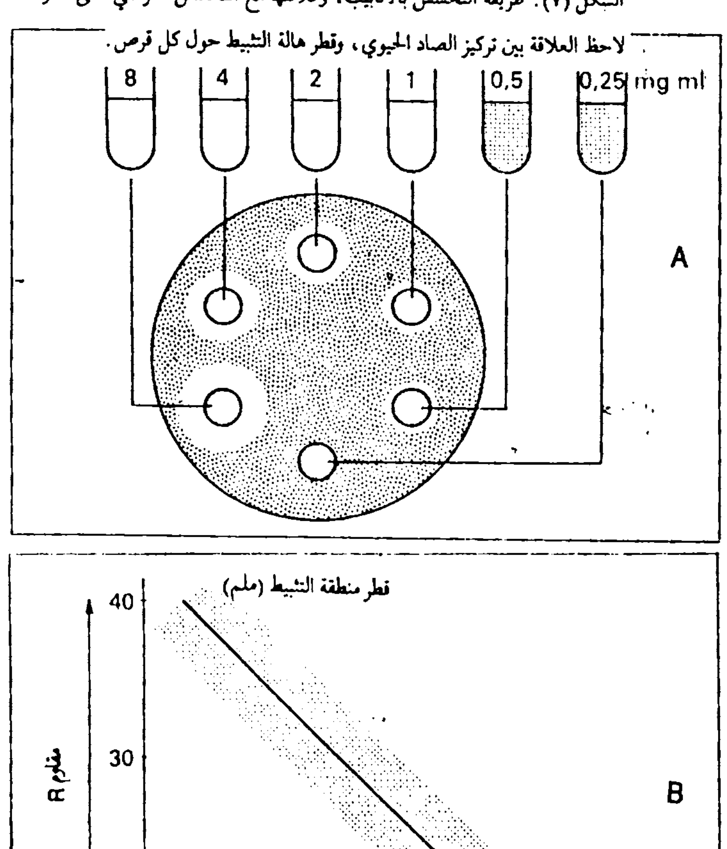
ولكن كيف يمكن معرفة مدى تحسس الجرثوم المعزول لصادٍّ حيوي ما؟

تجرى إختبارات تحسس الجراثيم على الصادات الحيوية بإحدى طريقتين:

أ ـ إختبارات التحسس بطريقة التمديد (بالأنابيب):

ـ المبدأ فيها تعيين التركيز الأدنى للدواء بالمكغ/مل المثبط للجرثوم (Mic). نجري في جملة عقيمة، تمديدات مختلفة لصادّ حيوي ما، بمرق مغذٍ ملائم، وهو مرق B.H.I، ثم نضيف إلى كل أنبوب كمية متساوية محسوبة من مستحلب الجرثوم المراد دراسة تحسسه بالنسبة لذلك الصاد، ومن ثم نحضن الأنابيب السابقة لمدة ١٤ ـ ١٨ ساعة بالدرجة ٣٥ ـ ٣٧° م. يخضع الجرثوم في كل أنبوب لتركيز معين من الصاد الحيوي المدروس، وأقل تركيز (مكغ/مل) من ذلك الصاد والذي يتمكن من منع الجرثوم من النمو المرئي في الأنبوب ندعوه: التركيز المثبط الأدنى M.I.C :

(M.I.C) Minimum Inhibitory Concentration: **(أخفض تركيز للصاد الحيوي يمنع النمو المرئي للمتعضي المزروع)**. في اليوم التالي نلحظ أنابيب الزرع. مع شواهدها الملائمة، ونحدّد أول أنبوب يُبدي صفاءاً عيانياً، وتركيز الصاد الحيوي في هذا الأنبوب يمثل أدنى تركيز من الصاد الحيوي كان كافٍ لمنع نمو الجرثوم المختبر، وهو نقطة النهاية End Point، يجب أن يكون التركيز المثبط الأدنى للصاد الحيوي **أقل من التركيز السمي** لنفس الصاد، وإلا اعتبرنا الجرثوم مقاوماً للصاد الموافق.



الشكل (٧): طريقة التحسس بالأنابيب، وعلاقتها مع التحسس القرصي على الغراء

لاحظ العلاقة بين تركيز الصاد الحيوي، وقطر هالة التشبيط حول كل قرص.

- نستخدم عدة تراكيز (٢ - ٤ أنابيب) لكل صاد حيوي مختبر، فإذا علمنا أنه يجب إجراء اختبار التحسس على عدة صادات حيوية لكل جرثوم، نتج معنا أننا نستخدم عدداً كبيراً من الأنابيب (١٠ - ٢٠ أنبوب) لكل جرثوم مرضي معزول من العينات الخمجية.

- تجرى هذه الطريقة الآن: **بجملة مستدقة آلية Microtiter System autamated -** الهدف، منها تسهيل العمل وإنقاص ساعات الحضن إلى ٤ - ٦ ساعات مع رفع الجودة، ولكنها مكلفة وتحتاج إلى الأجهزة والأدوات الخاصة والمستوردة.

تجرى هذه الطريقة من التحسس في المراكز الطبية والمشافي الكبرى ذات حجم العمل الضخم.

ب - إختبارات التحسس بالإنتشار القرصي على الغراء: (كيربي باوَر) - وهي الطريقة التي تستخدم حالياً في معظم المختبرات الطبية العامة والخاصة، ويقبل بنتائج هذه الطريقة فيها إذا أجريت بعناية كافية وتحققت شروطها كاملة، وهي الشروط التي حددها كير بي - باوَر واشتهرت هذه الطريقة بهذا الإسم (طريقة التحسس القرصي وفق كير بي باور: Kirby - Bauer).

- تهدف هذه الطريق إلى معرفة سعة منطقة تثبيط النمو الجرثومي حول قرص دائري من الورق النشاف بقطر ٦ ملم، قد أُشبع سلفاً بكمية معينة دقيقة من صاد حيوي معين (مكغ) بعد تثبيته على سطح آغار مفروش بالجرثوم المدروس.....

ـ تشير سعة منطقة التثبيط إلى سرّعة إنتشار الصاد الحيوي (من قرص التحسس) ضمن الآغار،ويجرى التحسس لـ ٨ ـ ١٥ قرصاً لصادات حيوية مختلفة على طبق بتري كبير من آغار موللر هينتون، وتوصف النتائج في النهاية بأن الجرثوم متحسس S أو متوسط التحسس I أو مقاوم R بالنسبة لكل قرص مختبر.

ـ من شروط هذه الطريقة أنها تحتاج لأيدٍ متدربة متقنة لعملها، وأنه لا بد من الإنتظار فيها مدة ١٢ ـ ١٤ ساعة عادة لأخذ النتائج.

ـ **شروط كيربي باوَر:**

وحّد كير بي باوَر معايير العوامل المؤثرة على قياس منطقة التثبيط (باستثناء الجرثوم المختبر طبعاً) وهي: حجم الزرعة المأخوذة من الجرثوم المختبر، تركيز الصاد في قرص التحسس المختبر، عمق الوسط (٤ ملم)، سرعة إنتشار الصاد ضمن الآغار، مدة الحضن، مواصفات آغار موللر هينتون (الذي يتضمن PH الوسط ـ تركيز مادة الآغار في ـ شاردتي Mg, Ca فيه ـ درجة الرطوبة ـ العناصر المغذية فيه. . .)

ـ **الطريقة:**

ـ نأخذ مستعمرة معزولة من الوسط الزرعي الصلب ونستحلبها في ١ ـ ٢ مل من مرق تريبكاز الصويا مع ١٪ من خلاصة الخميرة، يحضن المستحلب الناتج مدة ٢ ـ ٥ ساعات بالدرجة ٣٧° م للحصول على معلق جرثومي معتدل التغيم، يمدّد المعلّق بالماء المقطر أو بالماء الملحي الغريزي،

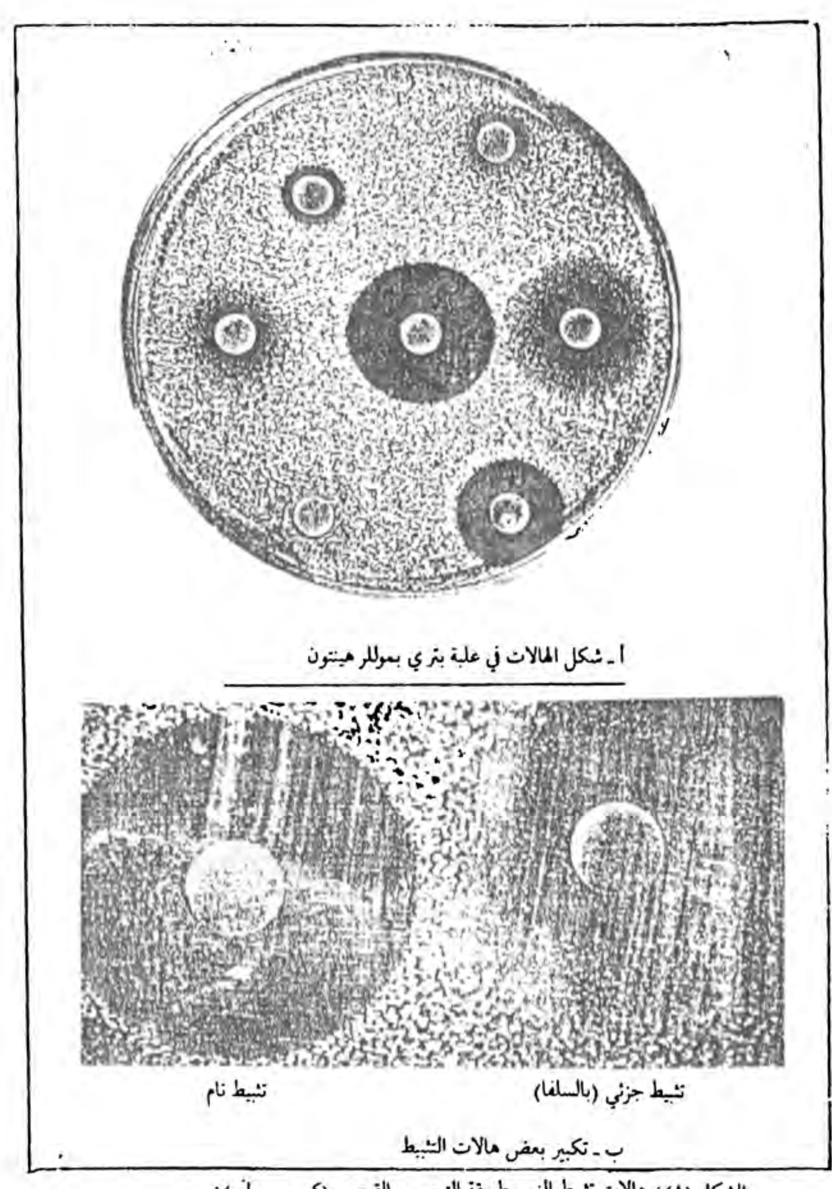
حتى تصبح كثافته معادلة عيانياً لكثافة معياري من كبريتات الباريوم* ويهدف هذا لضبط حجم الزرعة.

ـ تستخدم أطباق بتري بقطر ١٥ سم أو ١٠ سم بآغار موللر هينتون وبثخن ٤ ملم، ويفرش المستحلب الجرثومي السابق بواسطة ماسحة قطنية معقمة مرطبة (وليس بالغانة) على كامل سطح الغراء بعد إزالة الفائض من سائل الماسحة بتدويرها مع العَصر على بطانة الأنبوب، ويتم الفرش بالماسحة على ثلاثة مستويات: أفقي وعمودي وقطري، ثم تدوَّر الماسحة على محيط الآغار، يهدف هذا إلى تجانس توزع الجرثوم على سطح الآغار. بعد ٣ ـ ٥ دقائق، نبدأ بتطبيق أقراص التحسس الملائمة لنوع الجرثوم ولمكان الخمج، بسحبها واحداً بعد الآخر بملقط ملهب أو بواسطة مطبِّق الأقراص Diskapplicator، مع ضغط القرص بلطف ليعلَق على سطح الآغار.

ـ نضع ٨ ـ ١٠ أقراص على محيط العلبة بحيث تكون المسافة بين القرص والآخر وبين القرص وحافة العلبة من ١,٥ ـ ٢ سم، كما ونضع ٢ ـ ٤ أقراص في المركز، ونراعي أن نضع الأقراص التي يتوقع أن تكون ذات هالة تثبيط واسعة في المجموعة المحيطية (مثل بعض الأمينو غليكوزيدات

---

* معياري كبريتات الباريوم يحضر بإضافة ٠,٥ مل من محلول كلور الباريوم Ba Cl2.2H2O بتركيز ١,١٧٪ إلى ٩٩,٥ مل حمض كبريت ١٪ (٠,٣٦ نظامي) وهذا العياري العكري يحفظ بالظلام ويبدل شهرياً.



الشكل (٨): هالات تثبيط النمو بطريقة التحســس القرصي (كيربي ـ باوْر):

والكوتريمو كسازول . .) والأخرى ذات هالة التثبيط الأصغر في المجموعة المركزية (مثل الفانكوميسين والبولي ميكسين والكاناميسين . . .) .

يجب أن ننتهي من تثبيت الأقراص خلال ٥ ـ ١٠ دقائق على الأكثر من إنتهاء الفرش الجرثومي :

ـ تحضن العلب مباشرة، طيلة الليل (من ١٤ ـ ١٨ ساعة عادة) بالدرجة ٣٧° م ، ومن ثم تقاس **أقطار هالات تثبط النمو** حول كل قرص على حدة بالملم ، بواسطة مسطرة مدرجة مناسبة من ظهر العلبة ، بما في ذلك قطر قرص التحسس (٦ ملم)، وتتحدد نقطة النهاية عند خط التثبّط التام للنمو بواسطة العين المجردة .

في حال السلفوناميدات والكوتريمو كسازول : تتحدد نقطة النهاية في خط النمو الكثيف وليس الخفيف . وفي حال المتقلبات المتشرة نهمل أي غطاء من الإنتشار الذي يظهر ضمن هالات التثبيط .

ـ نقارن أقطار مناطق التثبيط مع جداول معيارية لتحديد درجة التحسس الجرثومي بالنسبة لكل صاد حيوي ونعبّر عن النتائج بـ S أو R أو I

الصادّة	تركيز الصادة في القرص (مكغ) أو (وحدة)	قطر منطقة التثبيط (ملم)		
		مقاوم (R)	متوسط (I)	متحسس (S)
Amikacin[54]*	30 µg	≤14	15-16	≥17
Ampicillin				
Enterobacteriaceae and enterococci	10 µg	≤11	12-13	≥14
Staphylococcus and penicillin-sensitive organisms	10 µg	≤20	21-28	≥29
Haemophilus	10 µg	≤19	—	≥20
Carbenicillin				
Proteus and *E. coli*	100 µg	≤17	18-22	≥23
P. aeruginosa§	100 µg	≤11	12-14	≥15
Cefamandole	30 µg	≤14	15-17	≥18
Cefoxitin	30 µg	≤14	15-17	≥18
Cephalothin‖	30 µg	≤14	15-17	≥18
Chloramphenicol	30 µg	≤12	13-17	≥18
Clindamycin	2 µg	≤14	15-16	≥17
Colistin#	10 µg	≤8	9-10	≥11
Erythromycin	15 µg	≤13	14-17	≥18
Gentamicin	10 µg	≤12	13-14	≥15
Kanamycin	30 µg	≤13	14-17	≥18
Methicillin**	5 µg	≤9	10-13	≥14
Nafcillin	1 µg	≤10	11-12	≥13
Nalidixic acid	30 µg	≤13	14-18	≥19
Neomycin	30 µg	≤12	13-16	≥17
Nitrofurantoin	300 µg	≤14	15-16	≥17
Penicillin G‡‡				
Staphylococci	10 units	≤20	21-28	≥29
Other organisms	10 units	≤11	12-21	≥22
Polymyxin B#	300 units	≤8	9-11	≥12
Streptomycin	10 µg	≤11	12-14	≥15
Sulfonamides				
N. meningitidis only	250-300 µg			≥40
Other organisms	250-300 µg	≤12	13-16	≥17
Tetracycline	30 µg	≤14	15-18	≥19
Tobramycin	10 µg	≤11	12-13	≥14
Trimethoprim-sulfamethoxazole[50]	1.25-23.75 µg	≤10	11-15	≥17 = S/ ≥23 = SS
Vancomycin	30 µg	≤9	10-11	≥12

الشكل (٩): جدول يبين أقطار هالات التثبيط الملائمة (ملم) لكل قرص صاد حيوي مع تركيزه (مكغ)

ملاحظات هامة :

١ ـ يجب استخدام مُتَعضيات شاهدة مِعْيارية معلومة الحساسية سلفاً لصادات حيوية معينة ، وتطبّق بين العينة والأخرى لمراقبة جودة الطريقة المتتالية (مثل : المكورات الذهبية من ذرية ATCC 25923 ـ والإيشريكيات القولونية من ذرية ATCC 25922 . . .)

٢ ـ لا حاجة لإجراء التحسس الدوائي عندما يكون الجرثوم المعزول ذو نمط معلوم التحسس سلفاً : مثلاً : هناك عضيات تتحسس للبنسيلين بشكل جيد مثل : محبات الدم ـ النايسيريات ـ الفطر الشعاعي ـ الوتديات الخُنَاقية ـ في حين أن البروسيلات تتحسس جيداً للتيتراسيكلين .
وبالمقابل نقول : يجب إجراء التحسس الدوائي لكل العُضَيَّات التي تعرف بمقاومتها أو بتبدل نموذج تحسسها للصادات الحيوية كالإيشريكيات القولونية والأمعائية والمتقلبات والكليبسيلة والعنقوديات والعقديات البرازية والزوائف . . .

كما يجب إجراء التحسس الدوائي عند وجود قصور في آليات الدفاع الحيوية لدى المريض وكذلك في سياق المعالجة الدوائية عند الشك بفعالية الجرعات المعطاة أو بفعالية الدواء ذاته .

٣ ـ لا تستخدم طريقة التحسس القرصي للجراثيم شديدة الحساسية كمحبات الدم والنايسيريات المعزولة . . .

٤ ـ يجب أن تكون مجموعة أقراص التحسس المختارة ، ملائمة لنوع الجرثوم ولمكان الخَمَج ، وسنذكر فيما يلي بعض أنواع الصادات الحيوية التي

من الضروري أن نطبق أقراصها على الزروع الموافقة، كأمثلة وليس على سبيل الحصر:

أ ـ خمج السبيل البولي:

ـ بعصيات سلبية الغرام: أمبيسيلين وأموكسيسيلين ـ كاربنسيلين ـ سيفالوسبورين ـ الأمينوغليكوزيدات ـ كوتريموكسازول ـ ناليديكسيك أسيد ـ ناتير وفور انتوئين ـ بيبي ميديك أسيد ـ أوكسولينيك أسيد... وقد يوضع الكلورامفينيكول.

ـ بالمكورات إيجابية الغرام: بنسيلين ـ كلوكساسيللين أو دي كلوكساسيللين أموكسيسيللين ـ سيفالوسبورين ـ تيترا اسيكلين ـ كوتريمو كسازول، ويمكن وضع: جنتاميسين ـ كاناميسين، وقد يوضع الكلورامفينيكول.

٢ ـ خمج الطريق التناسلي: عند الذكر بالمكورات أو المزدوجات (زروع السائل المنوي أو مفرزات الإحليل): الإريترومايسين ـ السلفا ـ سيفالوسبورينات ـ كوتريموكسازول ـ تيترا اسيكلين ـ أمبيسيلين ـ كلوكسا سيللين ـ كلورا مفينيكول ـ ويمكن وضع بعض من الأمينو غليكوزيدات في حالات التعنيد على الصادات الأخرى.

٣ ـ خمج الطرق التنفسية بالمكورات إيجابية الغرام (مسحات البلعوم والأنف والقشع): بنسيلين ـ فانكوميسين ـ أمبيسيلين ـ كلوكساسيللين ـ أموكسيسيللين ـ سيفالوسبورين ـ لينكومايسين أو كليندامايسين ـ إريثرمايسين ـ سبيرامايسين ـ تيترا اسيكلين ـ كلورا مفينكول ـ ويمكن وضع

بعضٍ من الأمينو غليكوزيدات في الحالات المعندة.

٤ً ـ خمج جلدي (سطحي) بإيجابيات الغرام (قيح سطحي): يشبه المثال رقم (٣) ويضاف للصادات أيضاً: نيوميسين ـ باستيراسين ـ فوسيديك أسيد. فهذه الصادات يمكن أن تطبق كمراهم جلدية خارجاً.

٥ً ـ خمج الدم بإيجابيات الغرام: يشبه المثال رقم (٣) ويضاف أيضاً: الأمينو غليكوزيدات ـ الستر بتو مايسين.

٦ً ـ خمج الطرق التنفسية العليا بالعصيات سلبية الغرام (مسحات أنفية أو بلعومية أو قشع): أموكسيسيلن أو أمبيسيلين ـ سيفالوسبورينات ـ أمينو غليكوزيدات ـ تيتراسيكلين ـ كلورا مفينكول.

٧ً ـ خمج الدم أو الخمج الجلدي السطحي بالعصيات سلبية الغرام: يشبه المثال رقم (٦).

٨ً ـ في معظم الزروع التي تعزل فيها الزوائف الزنجارية (الأذن ـ الحروق ـ القصبات. . .) يجب وضع: الأمينو غليكوزيدات بأنواعها ـ البولي ميكسين والأوكسي تيتراسيكلين ـ كاربنسيلين ـ السلفاميدات الكلورا مفينكول.

ـ أما خمج الجهاز البولي بالزوائف (زروع البول) فيضاف لما سبق: ناتير وفور انتوئين ـ ناليديكسيك أسيد ـ بيبي ميديك أسيد.

* وكل هذا يمثل إقتراحات وخطوط عمل عامة لإنتقاء أقراص التحسس المختلفة بغية تحقيق هدف: إنتقاء الصادات الملائمة لنوع الجرثوم المعزول ولمكان الخمج.

* لا ننسى هنا أنه في أخماج الزوائف (البولية وبالحروق): قد تكون الاستجابة السريرية (في الحياة) أفضل منها في المختبر (في الزجاج).

٥ ـ بعض الأخطاء الشائعة بطريقة التحسس القرصي:

أ ـ عدم التقيد بالكثافة النظامية للمستحلب الجرثومي واختلاف حجم الزرعة زيادة أو نقصاً.

ب ـ عدم التجانس في فرش المستحلب على الآغار لأي سبب (هناك من يستعمل الغانة للفرش!؟).

جـ ـ إنتظار فترة طويلة بين الفرش وتطبيق الأقراص، أوبين تطبيق الأقراص والحضن.

د ـ عدم إستعمال الصادات الحيوية الملائمة لنوع الجرثوم ومكان الخمج.

هـ ـ عدم التقيد بشروط الآغار: بالنوع والثخن وطازج أم لا . . .

و ـ عدم مقارنة أقطار هالات التثبيط مع الجداول المعيارية الملائمة.

ز ـ التلاعب بتركيز الصاد الحيوي بالقرص، من قبل الشركة المصنِّعة، أوسوء حفظ الأقراص، أو إنتهاء فعاليتها.

٦ ـ هناك إختلافات بيِّنة أوضئيلة بين نتائج التحسس للصادات الحيوية في الزجاج In Vitro (في المختبر) عن نتائج الحياة In Vivo ، أي استجابة المريض السريرية بعد تطبيق نفس الصاد الحيوي، وذلك لعجزنا عن تحقيق الشروط المثالية كاملة المطبقة في الزجاج، عجزنا عن تحقيقها لدى

المريض المعالَج : فقد يكون إمتصاص أمعاء المريض للصاد المعطى ضعيفاً وبـالتـالي ينخفض تركيـز الصاد المطلوب ، وكذلك قد يعجز الصاد الحيوي بعـد إمتصـاصـه عن الـوصـول إلى تماس فعّـال مع الجرثوم في بؤرة الخمج وبيئته لأسباب كثيرة ، وقد يتخرب الصاد قبل تماسّه مع الجرثوم فيغدو قليل النفع ، وقد لا تحقق الجرعات المتناولة تراكيز فعّالة بشكل مستمر في الدم ، والخ . . .

وعلى هذا ، ينظر الطبيب المعالج إلى نتائج التحسس الدوائي المتقنة على أنهـا «أفضـل وسيلة متـاحـة يمكننـا بها إختيـار الصـادة الحيوية الأكثر ملاءمـة» وبـالتـالي فإن ضمان الشفـاء من المـرض ليس في حوزتنـا كأطبـاء معالجين أو مخبريين .

ولكننـا لا ننسى : أننـا نقـدم الـوسيلة الفضلى المتوفرة علمياً بطريقة التحسس القرصي ، لذلك يجب التقيد التام بشروط الطريقة المذكورة آنفاً ، كي نقدم للمريض أفضل ما يمكن من احتمال الشفاء .

الباب الثالث

الفصل الأول ـ الحمات الراشحة

الفصل الثاني ـ الريكتسيات

الفصل الثالث ـ المتدثرات

الفصل الرابع ـ المفطورات

الفصل الأول

الحُمات الراشحة (الفيروسات) Virus

ـ الحمة الراشحة :

مخلوق حي دقيق جداً، أصغر من الخلية الجرثومية، تنتشر بكثرة في الطبيعة والمياه والتربة وعند الإنسان والحيوان والنبات، داخل خلوي مُجبر، وله تنوّع هائل وخواص مناعية متميزة.

ـ الحمات الراشحة الممرضة للإنسان وللحيوان على أنواع كثيرة وتسبب أعلى نسبة لأيام التعطيل عن العمل الموقت من بين جميع الأمراض.

ـ يبلغ قطر الحُمة الراشحة حوالي ١٠ ـ ٣٠٠ ميللي ميكرومتر (= ١٠-٩ متر = نانومتر) ولا يمكن رؤيتها حتى بالمجهر العادي، بل لا بد من المجهر الالكتروني لإيضاح أجزائها والتعرف على معالمها الأساسية.

ـ تتكاثر الفيروسات وتنمو في أوساط زرعية خاصة بها وهي: الخلايا الحية ـ نظراً لأن الفيروسات طفيلية مُجبرة ـ فمستنبتها الملائم هو الخلية الحية وليس أوساط الزرع الجرثومية التي مر ذكرها سابقاً، ذلك أن الفيروسات لا بدّ لها من أن تستخدم جملة الأنظيمات الخلوية وأن تُسَخِّر طاقة الخلية المصابة وصبغياتها لإنتاج نسخ من الفيروس الغازي، فهي بذاتها لا تملك جملة خمائرية خاصة بها (داخل خلوية مجبرة).

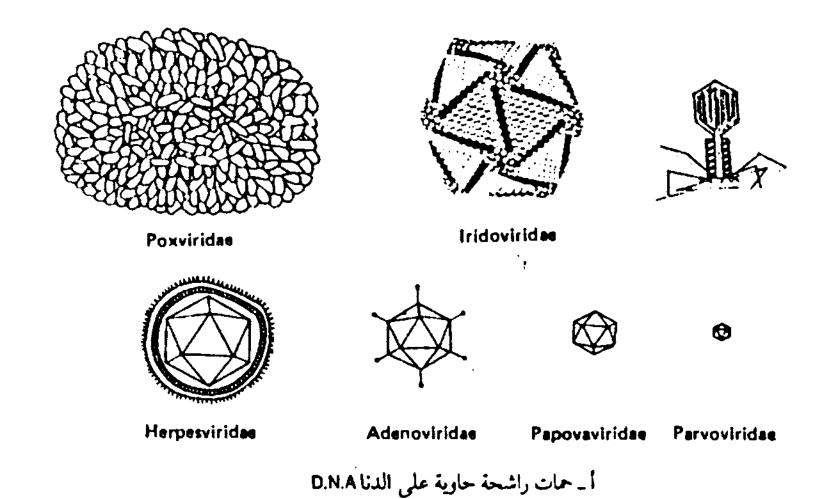
إن هذه الخـاصيـة في مستنبتـات الـزرع الفيروسية تتطلب تجهيزات خاصـة وإمكـانيـات كبـيرة لتأمين المزارع الحية وسبل الوقاية من العدوى، ومن أمثلة المستنبتـات الحُمَـويـة: دمـاغ الفأر الأبيض ـ قرنية عين الأرنب ـ جنـين البيض ـ جنـين مجهض لإمـرأة كانت حاملاً ـ أَجِنَّة القِرَدة. . . الخ، وبعـد إجـراء تلقيـح تلك النسج الحيـة بالفـيروسـات، تلاحظ التغيرات النوعية الطارئة على خلاياها، إذ غالباً ما يدل نوع التغير وخصائصه على زمرة معينة من الحمات الراشحة.

ـ يكـون شكـل الفـيروس كروياً أو مكعباً أو إهليلجياً أو على شكل النطفة أو على شكل الكرة المسننة ذات السطح الشئز وغيره (انظر الشكل)

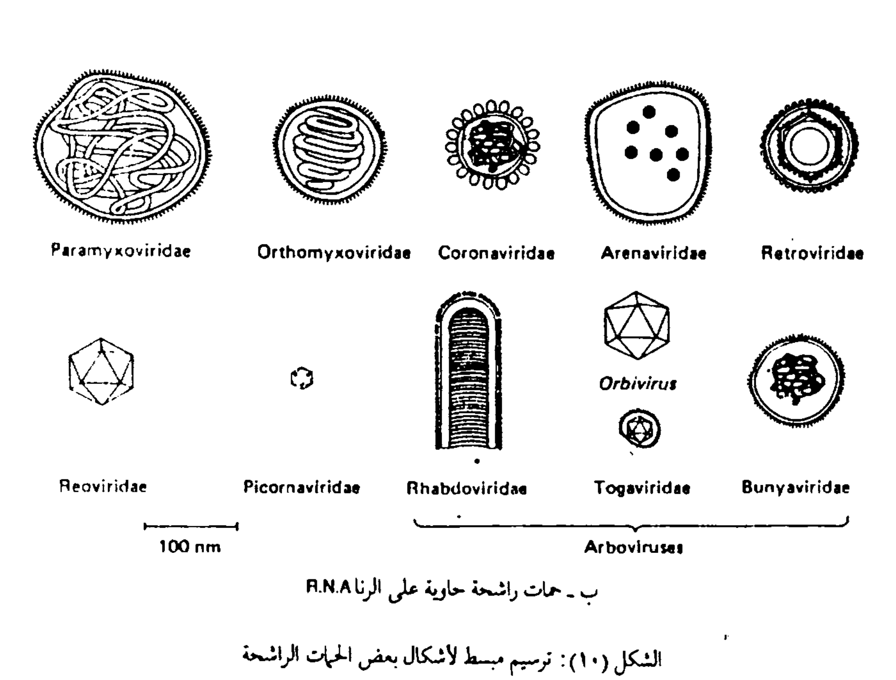
ـ يتكون الفيروس من الغلاف الخارجي (الظرف) Enveloped Virus والقُفَيصـة Capsid ذات البنيـة المستضـديـة، والحمض النووي الـ RNA أو أثارة من DNA كل على حدة، إذ لا تحوي الحُماتُ الاثنين معاً.

● من أمثلة الحـمات الـراشحـة الحـاويـة على الـرنا RNA: الحصبة والنكـاف والانفلونـزا بأنـواعها والكَلَب (أو السَعَار) والحصبة الألمانية وشلل الأطفال وإيكو وكوكساكي والفيروسات الأنفية وغيرها. . .

● ومن أمثلة الحـمات الـراشحـة الحـاويـة على الـدنا DNA: الجدري والحماق (= جدري الماء = أبو خريون) وداء المنطقة والعقبولة البسيطة وغيرها. .



أ ـ حمات راشحة حاوية على الدنا D.N.A



ب ـ حمات راشحة حاوية على الرنا R.N.A

الشكل (١٠): ترسيم مبسط لأشكال بعض الحمات الراشحة

● وهنـاك حمات راشحة أخرى مُختلَف في تصنيفها مثل: حمات التهاب الكبد الإنتاني A وحمات التهاب الكبد المصلي B

ـ إن الحـمض النـووي (RNA أو DNA) هو الجـزء المُعـدي من الفيروس والذي يسبب التغيرات المرضية في الخلية المهاجَمة، وتلك الخلايا المهـاجَمـة بدورهـا: ترد على ذلـك بإفراز العديد من المواد المقاومة للفيروس الغـازي وتأثيراتـه الهـدّامـة، والـتريـاق الخلوي النـوعي فيهـا هو بروتين (الأنترفِرون) مع مجموعة كيميائية أخرى.

ـ تستثير الحمات الراشحة نَوعي المناعة: الخِلطية والخَلوية وفي المناعة الخلطية تظهر الأضداد النوعية الكِبرَية IgM أولاً باكراً، ومن ثم تظهر IgG.

ـ إن التشخيص الواسع لأمراض الحمات الراشحة يعتمد على تحري أضدادها النوعية وعيارها في دم المصاب بالطرق المناعية المتنوعة، كالتراص الدموي وتفاعل تثبيت المتممة..

مثل: تحري أضداد الحصبة الألمانية وعيارها ـ تحري أضداد النكاف وعيارها... (ر: تحري أضداد الحمات في أبحاث المناعيات العامة).

الفصل الثاني

الريكتسيات *Rickettsiae*

ـ وهي مخلوقات صغيرة، أصغر من الجراثيم، وأكبر من الحمات الراشحة، على شكل عصيات قصيرة، أبعادها بين ٢ , ٠ ـ ١ ميكرومتر، داخل خلوية مجبرة (شَبَه الحمات)، لها جدار خلوي يشبه الجدار الخلوي للجراثيم، سلبية غرام، كما أنها تملك جملة محدودة من الأنظيمات الخاصة بها (وهذا أمر تشبه فيه الجراثيم ويفرقها عن الحمات الراشحة) كما أنها تحتوي على الـ DNA والـ RNA معاً.

ـ مستودعها الطبيعي: **مفصليات الأرجل** (مثل القُمّل والقُرَاد والعثّ والبرغوث) وعندما تنتقل إلى الإنسان تسبب له الآفات التي يتميز معظمها: **بالحُمّى والطَفَح الجلدي** عادة (مثل: التيفوس، وحمى كيو Q Fever تيفوس الأدغال، حمى الخنادق...)

ـ بتلوين غيمزا، تظهر عُصَوَّرات فردية أومثنى أومتجمعة على شكل سلاسل، باللون الأزرق، وهو الملون المفضل لإظهارها بالمجهر العادي.

ـ عزلها بالاستنبات صعب جداً، فهي لا تنمو بالأوساط الجرثومية بل تحتاج إلى مستنبتات الحمات الراشحة (مزارع نسيجية) والأفضل لها جنين البيض.

ـ يتم تشخيص الإصابات بالريكتسيات بكشف **الأضداد المصلية** :
كاختبـــار تثبيت المتممـــة واختبـــار تراص بعض زمـــر المتقلبـــات بأضـــداد الريكتسيات (تفاعل وايل فيلِكس Weil - Felix Reaction) وغيرها . . .

ـ تعالج أمراض الريكتسيات بـ الكلورا مفينيكول أو التيترا اسيكلين .

الفصل الثالث

المتَدثِّرات (الكلاميديا Chlamydiae)

المتدثرات مخلوقات دقيقة، تشبه الريكتسيات كثيراً، إلا أنها لا تحتاج إلى مفصليات الأرجل كمستودع طبيعي لها، داخل خلوية مجبرة، سلبية الغرام، أقرب إلى الجراثيم منها إلى الحمات لامتلاكها الجدار الخلوي، وجسيمات ريبية.

كما أن تكاثرها يتم بطريقة الانقسام البسيط، وهذا مالا تفعله الحُمات، لكن حاجة المتدثرات إلى الطاقة، وعدم اكتمال جملها الأنظيمية اضطرها إلى الحياة ضمن الخلية الحية إجبارياً، ومستنبتاتها هي المزارع النسيجية كجنين البيض أو أدمغة الفئران.

- تسبب أمراضاً متنوعة أهمها:

١ - أخماج العين: خمج الملتحمة المشتمل والتراخوما..

٢ - أخماج الجهاز التناسلي: الداء الحبيبي اللمفاوي (قد يكون زهرياً) - خمج الاحليل اللا سيلاني وخمج عنق الرحم..

٣ - أخماج الطرق التنفسية: ذات رئة..

- يتم تشخيص آفات العين بإجراء كُشاطة الملتحمة ورؤية الأجسام المشتمِلة أو المندمجة (Inclusion Bodies) التي هي أجزاء متكتلة من الحموض النووية للمتدثرات (كما تفعل الحمات) وذلك في الحالة الحادة الباكرة من الإصابة العينية.

ـ التشخيص الـواسـع لأمـراض المتـدثـرات يمكن الاعتماد فيه على الفحوصات المصلية: كتفاعل تثبيت المتممة..

ـ التيـتر اسكلين هو الـدواء المفضـل لمعالجة المتدثرات وربما نستخدم السلفا أو الأريتر ومايسين.

الفصل الرابع

المفطورات (الميكوبلازما Mycoplasmas)

المفطـورات مخلوقـات دقيقـة أيضـاً، لا تحوي جداراً خلوياً، لذلك تظهـر بأشكـال متعـددة ومختلفـة، قطرها يتراوح بين: ١٢٥, ٠ ـ ٢٥, ٠ ميكـرومـتر (بـين ١٢٥ ـ ٢٥٠ نانـومـتر) أي أن حجمها قريب من الحمات الراشحة، غير أنها تحوي الـ DNA والـRNA معاً وتتكاثر بالانقسام البسيط، إذ تولّد عكراً خفيفاً على المنابت الصنعية كالمرق المغذي، ولها القدرة على توليد الطاقة الاستقلابية لامتلاكها جمل الأنظيمات الخاصة بها، فهي ليست مجبرة التطفـل داخـل الخـلايا، لكنها تضطر إلى الأكسجين لنموها، لذلك فهي هوائيـة مجبرة مع حاجتهـا لتركيـز عالٍ من غاز CO2 ومن الـبروتين في وسط الزرع في بيئة قلوية (PH = ٨ ـ ٨,٥) . .

ـ يمكن للمفطـورات أن تنمـو على المرق المغذي المضاف إليه سائل الجبن أو مصـل الـدم بنسبة عالية(قد تصل إلى ٤٠٪)بالحرارة ٣٧°م وخلال ٢ ـ ٣ أيـام، فتسبب عكـراً خفيفـاً، وعنـد تحضير لطاخات من ثفالة المرق المركزة وتلوينها بملون غيمزا نشاهد المفطورات.

ـ هناك منابت صنعية خاصة للمفطورات تحوي على البروتين بتركيز عالٍ مع بعض الصبغات والبنسلين ليكون الوسط ناخباً لها، إذ تنمو عليها على شكل مستعمرات صغيرة ناعمة غاطسة في سطح المستنبت وقد تكون ناعمة جداً تحتاج للمكبرة.

ـ تستطيع المفطورات أن تنمو على المزارع النسيجية أيضاً كجنين البيض (مثل الحمات والريكتسيات والمتدثرات).

ـ تسبب المفطورات: ١ـ آفات الرئة: ذات الرئة والجنب بالميكوبلازما P.P.L.O ويعتمد التشخيص على عزل المفطورات من مسحات البلعوم أو القشع..

٢ـ آفات الاحليل: التهاب الاحليل بالميكوبلازما..

ـ يتم التشخيص:

١ ـ بعزل المفطورات من العينات بالزرع على الأوساط الخاصة بالميكوبلازما.

٢ ـ أو بتحري أضداد المفطورات في مصل المريض (التحريات المصلية): بطريقة تثبيت المتممة..

ـ تتأثر المفطورات بالتيتراسكلين، ولا تتأثر بالبنسلين والسلفا.

الباب الرابع

الفصل الأول: المناعيات العامة.

الفصل الثاني: مبادىء التفاعلات المناعية.

الفصل الثالث: تقييم بعض الاختبارات المناعية الشائعة.

الفصل الأول

مبادىء المناعيات العامة

Immunology Principles

* مقدمة ومدخل:

عائلة مكونة من عدة أفراد، أصيب أحدهم بالحمّى المعوية (الحمى التيفية) دون الباقي، مع العلم أن الجميع يعيش في بيئة واحدة ويتناول طعاماً واحداً، ويخضع لمناخ واحد، ولنموذج حياتي صحي واجتماعي واحد، فما الذي جعل فرداً واحداً هدفاً للإصابة الإنتانية (الخمجية) دون غيره؟!

- تبدأ لقاحات الأطفال الرضّع في الشهر (٣ - ٤) عادة، ثم يتلقى الطفل الجرعة الثانية بعد (٦ - ٨) أسابيع، والجرعة الثالثة بعد نفس المدة، والجرعة المعزِّزة (الداعمة) في نهاية السنة والنصف الأولى من العمر، والمعزِّزة الثانية عند أول دخوله للمدرسة (على خلاف المصادر)، فلماذا؟ وما الهدف؟

* بدأ علم المناعيات تاريخياً، بما دلّت عليه الملاحظة والتجربة من أن الأشخاص الذين يشفون من الأمراض الخمجية مثل (الجدري، الحصبة، الحماق، الطاعون) **يصبحون مقاومين (منيعين)** للهجمات التالية من الأمراض نفسها، وقد قادت هذه الخبرة إلى محاولات تجريبية لوقاية الناس من أمراض كهذه.

ثم توسع مفهوم علم المناعة العام ليعني **«العلم الذي يدرس الردّ أو الارتكاس المناعي الناجم عن تأثير مادة أجنبية على البدن، أو عن حدوث طفرة فيه أو نشوء خلايا أو محاصيل غير مرغوب فيها، في ثناياه»**.

وبشكل أدق نقول: إن البدن الحي كله يعد **«ذاتاً»** Self لا يهاجم نفسه ولا أجزاءه، فإذا دخل جزء أجنبي غريب عنه **«سوى»** Non Self فإن البدن يتعرف عليه على أنه «سوى» غريب، فتبدأ سلسلة من الأحداث المناعية، الهدف منها القضاء على الـ «سوى» الغازي، عبر سبيلين رئيسيين هما:

أ ـ **الأول**: حثّ بعض الخلايا المناعية (اللمفاويات البائية والخلايا المصورية) على إفراز الأضداد النوعية المصلية (الغلوبولينات المناعية Immunoglobulins - Ig) وهذا ما نسميه **«بالمناعة الخِلطية»** Humoral I. .

ب ـ **الثاني**: تشكل بعض الخلايا المقتدرة والمحسسة مناعياً تجاه هذا الـ «سوى» بإحداث حالة من فرط الحساسية، وهذا ما نسميه بالمناعة الخَلَوية (**المناعة المتُواسَطة بالخلايا** Cell - Mediated Immunity / C.M.I) .

المناعة : Immunity:

هذا التعبير كان يستعمل أصلاً في اللغات الأجنبية ليدل على «الإعفاء من الخدمة العسكرية أومن دفع الضرائب» ثم أصبح مصطلحاً طبياً للمرضى الذين لا يصابون بهجمات جديدة من الجدري أو الطاعون لكونهم قد أصيبوا سابقاً.

ومعنى هذا المصطلح عموماً: مقاومة الثوي Host للعوامل الممرضة التي تغزوه، أو لمحاصيلها السامة.

- **والمناعة، مناعتان: لا نوعية، ونوعية:**

وُهِبَت الفقاريات النوعان معاً على عكس اللا فقاريات، والحق أنهما وثيقتا الصلة، ومُحكمتا العلاقة في الثدييات والإنسان بشكل يدعو للعجب!

١ ـ المناعة اللا نوعية:

أو المناعة المتأصِّلة، وهي لا تستلزم التعرف النوعي على العامل الأجنبي، وتشمل:

أ ـ **الإستعصام الموروث أو النوعي**: فالإنسان مثلاً لا يصاب بجدري الدجاج، والكلاب لا تصاب بالحصبة، والهنود والزنوج أكثر استعداداً للإصابة بالسل من البيض، . . .

ب ـ **العوائق الفيزيائية والكيماوية**: الجلد السليم والأغشية المخاطية السليمة بما فيها من PH معينة وأنظيمات مقاومة للجراثيم على سطح الجلد، وأنظيمات حالّة وأهداب وعصارات هاضمة وحالّة في الأغشية المخاطية، والعُرق والدمَوع ومفرزات البدن والعصيات اللبنية في المَهْبِل. . .

جـ ـ **الآليات الخلوية**: عن طريق التفاعل الالتهابي واشتراك البلعميات (وهي العَدِلات مفصصة النوى والبلاعم الوحيدة النوى).

د ـ **الأضداد الطبيعية**: وهي الموجودة سلفاً دون تعرض مسبق للمستضدات: كأضداد الزمرة (المناعة الطبيعية). . .

٢ ـ المناعة النوعية :

وهي منفعلة أو فاعلة :

أ ـ المنفعلة : تحدث بحقن الضد جاهزاً للبدن أو بنقل الخلايا المُحَسَّسة وذلك من امرىء منيع إلى امرىء غير منيع ، وهذه مناعة منفعلة مكتسبة (صنعيّة) ، أما المناعة المنفعلة الطبيعية فتنتقل من الأم إلى جنينها عبر المشيمة أو إلى رضيعها عبر اللِّبأ (الصمغة) ، وأياً ما كان نوع المناعة المنفعلة ، فإنها تتصف بقصر الأمد ولا ذاكرة لها .

ومن أمثلة المناعة المنفعلة الصنعية : إعطاء الغاماغلوبولين الجاهز حقناً بالعضل للوقاية من الاصابة بالحُمات الراشحة ، كحُمَة التهاب الكبد الإنتاني وحُمات التهاب الطريق التنفسي العلوي . . .

ب ـ أما المناعة **الفاعلة** وهي المجال الأرحب للدراسة : فلها ثلاث خصائص أساسية هي : التعرف ـ النوعية ـ الذاكرة :

١ً ـ التعرف المناعي : أي التعرف على العوامل والمواد الأجنبية «سِوى» على أنها متميزة عن أنسجة الجسم ذاته وبروتيناته «ذات».تدُعى المواد التي يتم التعرف عليها «سوى» باسم المستضدات Antigens Ag (مُولِّدات الضِد) التي تتفاعل نوعياً مع الأضداد المتشكلة والخلايا الناتجة عن ذلك .

س : ما هو المستضد Antigen ? [Ag] ـ (أو مُولِّد الضد)؟

ـ المستضد مادة إذا دخلت العضوية أدّت إلى إحداث جواب مناعي (ردّ) سواء بتشكيل أضداد نوعية ، أو بتحريض خلايا مُحَسَّسة ، أو بالأثنين معاً .

ويمتلك المستضد خاصتين أساسيتين:

أ ـ القدرة على استثارة الرد المناعي في العضوية المهاجَمة (الاستمناع = الاستضداد) ويختلف ذلك من مستضد لآخر وذلك حسب:

قَدُّ الجزيء المستضدي ـ بنيته الكيميائية ـ وهيئته الفراغية وتثنياته ـ طريقة دخوله للبدن ـ سرعة تقويضه في الجسم...

وعلى هذا نجد: أن البروتينات مُستمْنِعات قوية، والسكريات مستمنعات ضعيفة، أمّا الشحميات فهي غير مستمنعة لوحدها أبداً «نسميها بالنَّواشِب» ما لم تُربَط ببروتين أو سكر «جزيء حامل»..

الشكل (١١): جدول اللقاحات: أنماط اللقاح ومكونات بعض اللقاحات الشائعة.

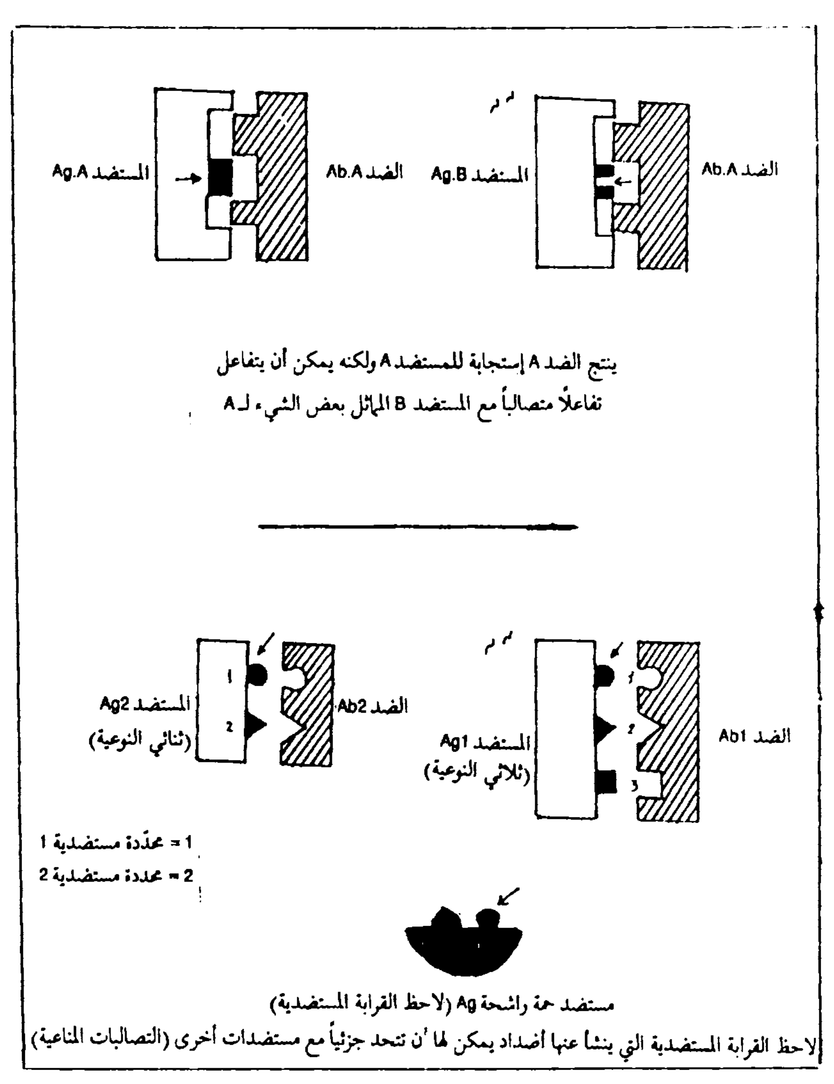
نمط اللقاح	أمثلة
جراثيم حية مُضعفة:	جدري، شلل الأطفال، حصبة، جمرة، ب ث ج B.C.G للسل، حصبة ألمانية، حمى صفراء..
جراثيم مقتولة:	ت أ ب للتيفية ونظيراتها، الشاهوق، التيفوس، النزلة الوافدة، الحصبة، شلل الأطفال...
ذوفانات (مفرزات سمية خارجية):	خُناق، كُزاز...

* مكونات اللقاح الثلاثي:

١ ـ جراثيم مقتولة لمستدميات الشاهوق.
٢ ـ ذوفانات معطلة لعصيات الكزاز
٣ ـ ذوفانات معطلة لعصيات الخناق

} حقناً بالعضل I.M

مكونات اللقاح الرباعي: جميع مكونات اللقاح الثلاثي + حمات حية مضعفة لشلل الأطفال [تعطى عن طريق الفم (قطرات)]



الشكل (١٢): التصالب المناعي الناجم عن القرابة المستضدية (القفل والمفتاح = النوعية)

ب ـ القدرة على التفاعل بشكل نوعي مع الضد المتشكل أومع الخلايا المُحَسَّسة التي حثّ على تشكيلها.

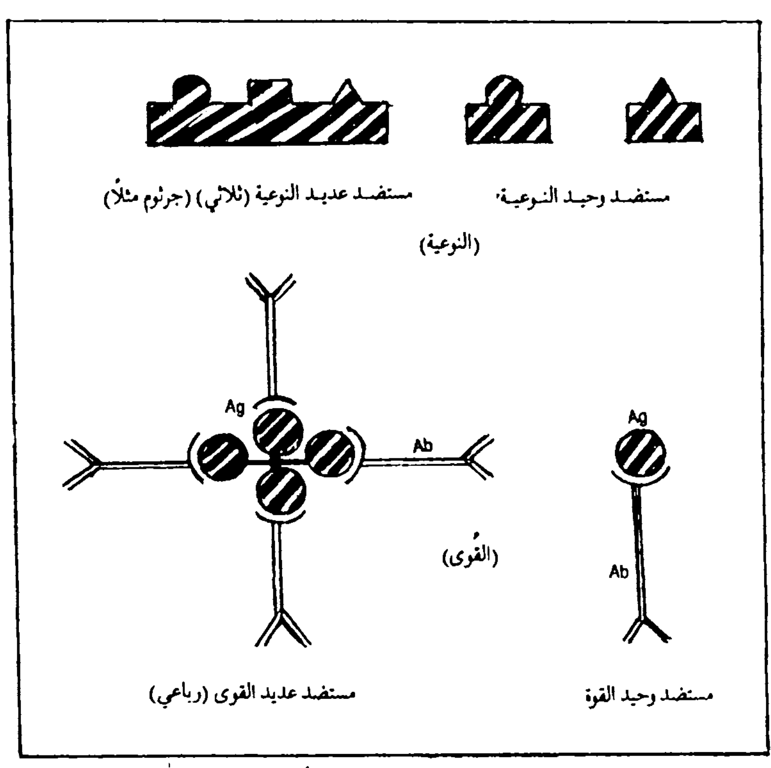
ـ إن الجزء من المستضد الذي يتحد مع الضد النوعي يسمى بـ «المُحَدِّدَة المستضدية Antigenic Determinant» وهي نفسها الجزء الذي يُحرِّض على انتاج الأضداد النوعية.

من المستضدات ما يحمل محددات مستضدية من نوع واحد،يسمى «مستضد وحيد النوعية» Monospecific»، في حين أن منها ما يحمل محددات مستضدية مختلفة الأنواع: فيسمى «المستضد عديد النوعية Polyspecifics».

ـ وقد يتحد الضد مع جزيء مستضدي واحد فنسميه: ضد وحيد القوة Monovalant، في حين أنه قد يستطيع الاتحاد مع أكثر من مستضد واحد فنسميه: ضد عديد القوىPolyvalant .

ـ وقد تتشابه مُحددة مستضدية لمستضد معين مع مُحددة مستضدية لمستضد آخر، وهذا ما نسميه بـ «القرابة المستضدية»، وينشأ عن ذلك توليد أضداد نوعية تتشابه فيما بينها ببعض أجزائها، وهذا ما يسبب «تفاعلات التصالب المناعية» كما هو الحال في المثالين الشائعين التاليين:

* ـ القرابة المستضدية بين مختلف أنواع السلمونيلات (التيفية T ونظيرة التيفية A ونظيرة التيفية B) بالمستضد الجسمي (O) لكل منها، (راجع اختبار فيدال في الاختبارات المناعية الشائعة).



الشكل (١٣): تمثيل النوعيات والقُوى

* ـ وكذلك القرابة المستضدية بين الحُمات الراشحة (المسببة لانتان الطرق التنفسية العليا القيروسي) وبين بعض الجراثيم (السلمونيلات).

ـ قد يكون المستضد خلية غريبة، أوسرطانية، أوجرثوماً أوفطراً، أو حماتٍ راشحة، أوطفيلياتٍ، أوأية مادة بروتينية أوشحمية بروتينية أو سكريات غريبة عن «الذات».

- يمكن تحديد طرق دخول المستضدات للعضوية كما يلي:

١ - عبر جهاز الهضم (ابتلاع - طعام).

٢ - جهاز التنفس (استنشاق).

٣ - الحقن العضلي أو الوريدي أو تحت الجلد.

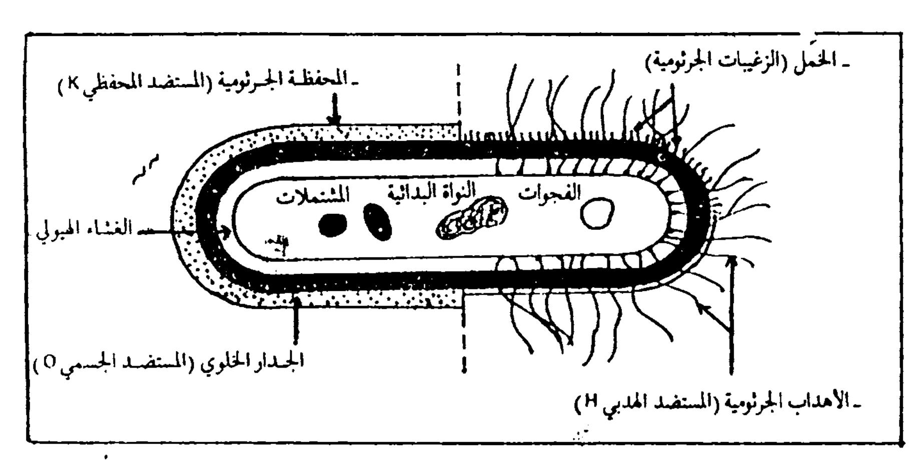
- إن أهم المستضدات التي تملكها الجراثيم عموماً هي:

١ - مستضد الجدار الخلوي للجرثوم: المستضد الجسمي (O).

٢ - المستضد الهدبي (H).

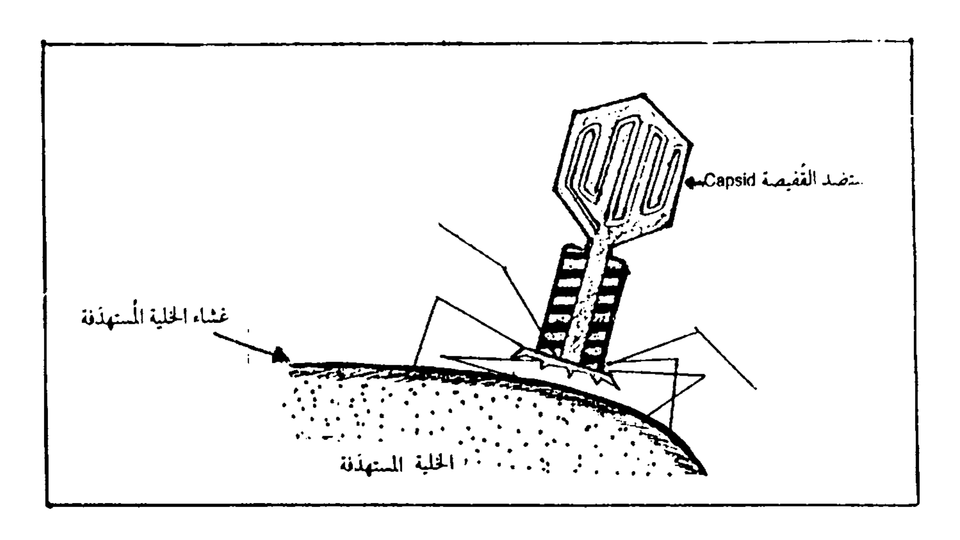
٣ - المستضد المحفظي (K).

٤ - كما وتعد الذوفانات التي تفرزها الجراثيم للخارج ذات قُدرة استمناعية قوية (ذيفان الكزاز - ذيفان الحالّة العقدية - ذيفان الخُناق. . .).



الشكل (١٤): أهم أنواع المستضدات الجرثومية:

ـ أهم المستضـدات التي تملكهـا الحـمات الـراشحـة هي : مستضـد القُفَيْصة Capsid وهو الغلاف الذي لا يدخل للخلية المهاجَمة أصلاً .



الشكل (١٥) : المستضدات الحُموية ،

س ـ ولكن : من يقوم بالتعرّف على المستضد الغازي؟

* تقـوم الخـلايا المؤهلة مناعياً (وهي اللمفاويات الصغار) بعملية «التعرف المناعي» على المستضد ، وهي تتحرك بنشاط دون أن تقوم بالبلعمة ، وليس لها شبكـة هيـوليـة باطنـة كما هو الحـال في الخـلايـا المصورية ، وتؤلف تلك اللمفـاويـات حوالي ثلث كريـات الـدم البيضـاء الجائلة ، ومنها أعداد أكبر ترابط في الأنسجة اللمفاوية الأخرى ويقدَّر أجلُ بعضها بالسنوات .

* تصنَّف اللمفاويات وفق وظيفتها إلى نمطين رئيسيين :

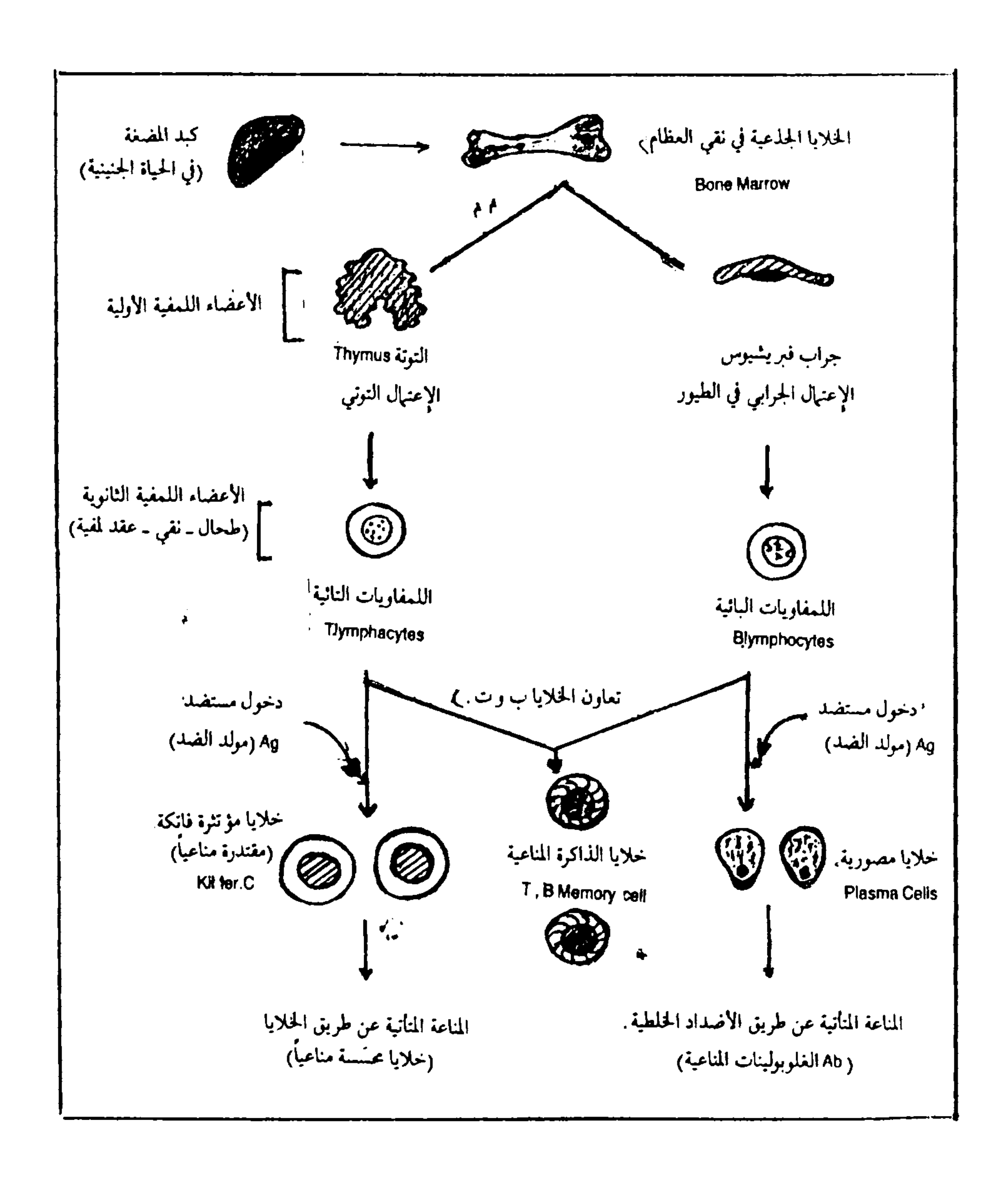
ـ **اللمفاويات التائية** T-Lymphocytes : مشتقة من التُوْتَة Thymus (التيموس) .

ـ **اللمفــاويــات البــائيــة** B-Lymphocytes مشتقــة من النَقي Bone Marrow.

● لمحة موجزة عن مراحل تخلق الجهاز المناعي : (انظر الشكل) .

تتخلق الخلية الجِذعية المكونة للدم من الكيس المحي للبيضة الملقحة ومن كبـد المضغـة ، ومن ثم تهاجر للنقي الذي يصبح بعدئذ المصدر الوحيد للخلايا الجذعية في الجنين والوليد والرضيع والطفل والفتى والكهل والشيخ وعندما يُؤذن بوقت الولادة تهاجر جمهرة من الخلايا الجذعية المكوِّنة للدم من النقي إلى التـوتـة ، حيث تتكاثر فيها بفعالية متحولة إلى خلايا لمفاوية تائية مؤهلة منـاعيـاً ، ماتلبث أن تغـادرهـا لتجـول على الـدوام فيـما بين الـدم والأعضـاء اللمفـاويـة المحيطيـة ، واللمفـاويات T هي المسؤولة عن المناعة الخلويـة . ومن اللمفـاويـات T أيضـاً اللمفـاويـات T المؤازرة Helper التي تسـاعـد اللمفـاويـات البـائيـة ، التي بدورها لا تستطيع العمل على الوجه الأكمل إلا بمساعدة المؤازرة من الـ T .

ـ وهناك جُمْهرة أخرى من الخلايا الجِذعية اللمفاوية في النَقي ، تخضع لعمليـات تكـاثر وتمايز في موضع لم يحدد بعد في الثدييات ، وهو معروف عند الطيـور بـ «جــراب فبريشيــوس» (في المعي الخلفي) Burso of Fabricius



الشكل (١٦): اشتقاق اللمفاويات التائية والبائية وخطوات تفعيلها مناعياً

وينتهي المطاف بهذه الخلايا إلى تشكيل اللمفاويات البائية B-Lymphocytes .

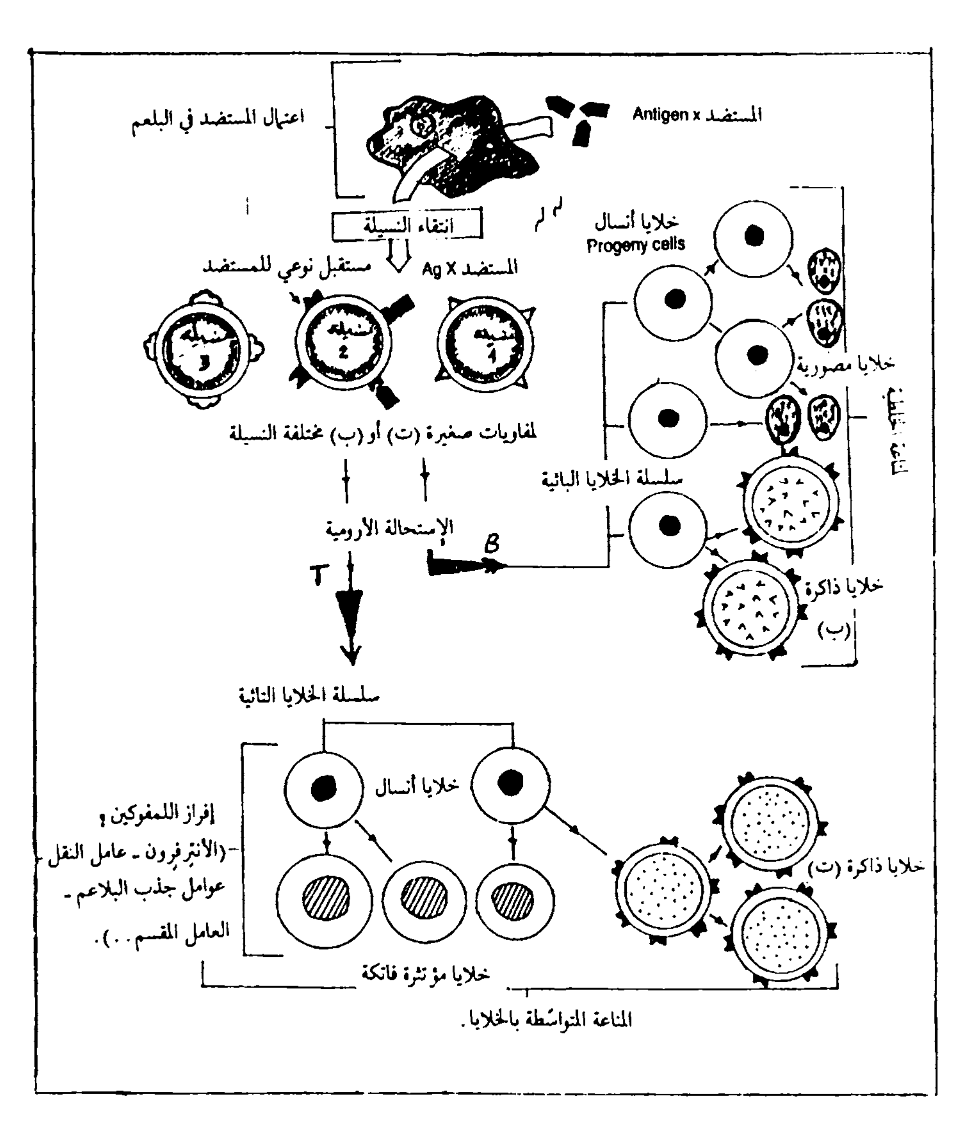
لا يمكن التفريق بين نوعَي اللمفاويات بالمجهر الضوئي العادي وإنما بالغلوبولينات السطحية ومستقبلات المستضدات.

- **والآن لنتابع معاً الأحداث المناعية باختصار عند دخول مستضدٍ Ag «فَجٍّ» معين إلى البدن:**

تقوم البلاعم بإلتقام ذاك المستضد الغازي، ثم تلفظه وتقدمه «مُعامَلاً ناضجاً» للمفاويات البائية والتائية المناسبة لذلك المستضد، والتي تتفاعل معه على مستقبلاتها الغشائية الخاصة والنوعية (حسب نظرية إنتقاء النسيلة«ماك فِرلين»(أي أن كل نوع معين من المستضدات يتثبت ثم يحرض نسيلة معينة من اللمفاويات Mac Farlane Burnet) ثم تتعاون اللمفاويات ت وب المحرضة فيما بينها، ومن ثم تطرأ أمور تطورية مدهشة على نوعَي اللمفاويات، نتيجة لذلك التماس مع المستضد المعامَل السابق:

أ ـ **إذ تعاني اللمفاويات البائية من استحالة أرومية**، وتتكاثر معطية: خلايا الذاكرة المناعية،وكذلك مجموعة خلايا كبيرة فعّالة هي الخلايا المصورية، التي تصطنع الأضداد النوعية Ab وتفرزها طيلة حياتها القصيرة (المناعة الخِلطية) (من ١٨ ـ ٤٨ ساعة).

إن معظم الخلايا البائية الجوّالة في الدم هي جمهرة تطوف باستمرار بين مجرى الدم والأنسجة اللمفية، ويعتقد البعض أن معظمها خلايا ذاكرة مناعية.



الشكل (١٧): تمثيل ترسيمي مبسط للتنبيه المستضدي وعواقبه

ب ـ أما اللمفاويات التائية، فبعد الاستحالة الأرومية، تتحول إلى خلايا فعّالـة ما تلبث أن تعـاني من تحولات تتـمايز وتتكاثر خلالها إلى خلايا فاتكة Killer (قاتلة) وإلى خلايا ذاكرة أيضاً، والخلايا الفاتكة تسبب الأذيّة للخلية الـ «سوى» الغازية أو «الطافرة» أو «السرطانية» أو خلايا الأعضاء المغروسة، أو للخلايا التي تُؤوي الحمات، كما أنه ـ وهذا أمر مناعي هام جداً ـ خلال تكـاثـر الخـلايـا ـ ت، يتم إفـراز عوامـل بروتينيـة فعّـالـة حيـويـاً تسمى: (اللمفـوكينـات: الحفّـازات اللمفية) وهي تستنفر البلاعم، وتُفعِّلها مناعياً لتبدأ بعملها في بلعمة الطفيليات أو الجراثيم والقضاء عليها.

ـ ولا ننسى في هذه العجالة أن ندرك بأن الخلية الجرثومية أو النسيجية لها مجمـوعـة كبيرة من مستضدات متميزة ومتنوعة على سطحها، وكل منها يمكن أن يتكرر على السطح مراراً كثيرة، فمثلاً:

على سطـح كريـة حمراء واحـدة لشخص من زمرة +A: يوجد مئتان وخمسون مستضد A، وثلاثمئة مستضد رَيصي D، ومئتان وتسعون مستضد لويس، وهكذا. . .

ـ كما يمكن لخليـة جرثـوميـة خاجـة أن تنبـه نَسَـائـل عديـدة من اللمفـاويات على قدر نوع المحددات المستضدية الوافدة، ونحن نعبر عن الجرثوم بأنه «مستضد» للتبسيط لا أكثر، في حين أنه حقيقة مجموعة متكررة ومتنوعة من المستضدات النوعية.

٢ً ـ النـوعيـة: يمكن تشبيـه النـوعيـة فيـما بين المستضـد Ag من جهة وبين الأضداد المتشكلة Ab، أو الخلايا المحسسة، بشكل القفل والمفتاح، فلكل

قفل مفتاح معين، وكل مفتاح لا «يفتح» إلا قفلاً معيناً نوعياً له. (راجع الشكل).

ولنلاحظ معاً: القرابة المستضدية والأضداد المتصالبة المتشكلة، ومن الملاحظ في الاختبارات المناعية أنه عند حدوث التصالبات المناعية يكون الاتحاد بين الضد والمستضد ضعيفاً نسبياً، وبالتراكيز المنخفضة عادة.

٣ً ـ الذاكر المناعية: وهي الفارق الهام بين الشكل الفاعل والشكل المنفعل للمناعة النوعية.

قد تتكون خلايا الذاكرة المناعية (لمفاويات ت وب) أثناء الجواب النوعي التلاؤمي على منبه مستضدي في ثوي ما.

ـ ففي الرد المناعي الابتدائي يمكن اكتشاف وجود الأضداد النوعية لأول مرة اعتباراً من اليوم الخامس بعد التنبه بالمستضد للمرة الأولى ويبلغ الجواب المناعي (تركيز الأضداد) ذروته في اليوم الرابع عشر ثم يبدأ مستوى الأضداد بالهبوط ليصبح منخفضاً أو غير مقيس في غضون شهر أو شهرين. (انظر الشكل).

ـ وعندما تعطى زرقة معزِّزة (الدخول الثاني للمستضد نفسه) فإن البدن «المُبرمج» والمستعد بما احتشد فيه من نسائل خلايا الذاكرة النوعية، يكون رده المناعي الثانوي: أسرع وأقوى وأدوم من الأول:

- إذ تظهر مستويات أعلى من الأضداد باكراً خلال: ٤٨ ـ ٧٢ ساعة.

● وتتضاعف كمياتها لمدة أطول لتبلغ تراكيز أعلى وبنوعية أفضل، إذ يكون الارتباط بين الضد والمستضد أوثق مما هو عليه في الجواب المناعي الأولي.

● كما وتستمر المناعة لفترة أطول لمدة شهور وقد تبقى لسنوات... وهذا هو هدف اللقاحات ومبدؤها.

- ولكن: **ليست كل المستضدات بقادرة على تهييج خلايا الذاكرة**، إذ أنها أصلاً قد لا تكوّن خلايا ذاكرة عند دخولها الأول للبدن، ويبقى البدن يعاملها على أنها «مستضد» غريب لأول مرة مهما تكرر دخولها ثانية... (رد مناعي أولي دائماً).

ومثال ذلك: المستضد الجسمي (O) للسلمونيلة التيفية وبعض الحمات الراشحة، أوقل كافة المستضدات المركبة من عديدات السكاريد المخاطية L.P.S، وغيرها...

س - والآن، وبعد ما سبق، **ماهي الأضداد؟** (Ig = Ac = Ab).

الأضداد: هي بروتينات (غلوبولينات) تنشئها وتفرزها الخلايا المصورية، استجابة لمنبه مستضدي ما، وتشاهد الأضداد في المصل (الدم) - البول - السائل النخاعي - حليب الأم واللبأ (الصمغة) - العقد البلغمية - الطحال - مفرزات الأنبوب الهضمي - المفرزات القصبية...

- فالأضداد هي **غلوبولينات مناعية**، وتمتلك خصائصها، إذ تتألف من أربع سلاسل أمينية (عديدة الببتيد): اثنتان خفيفتان، معظمها K

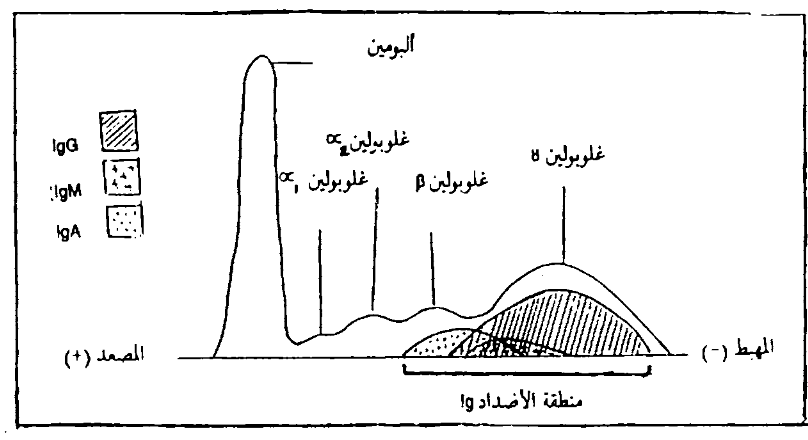
(كـابـا) ٦٥٪، أو / (لمـدا) ٣٥٪، واثنتـان ثقيلتـان تنضـوي تحت خمسة أصناف رئيسية تعرف بالأحرف الإغريقية:

γ (غـامـا) أو α (ألفـا) أو μ (مـو) أو δ (دلتـا) أو ϵ (إبسيلون) ومن هذه السلاسل الثقيلة يستمد الغلوبولين المناعي اسمه على التوالي، فنقول بأنه من نوع:

IgG أو IgA أو IgM أو IgD أو IgE على التوالي.

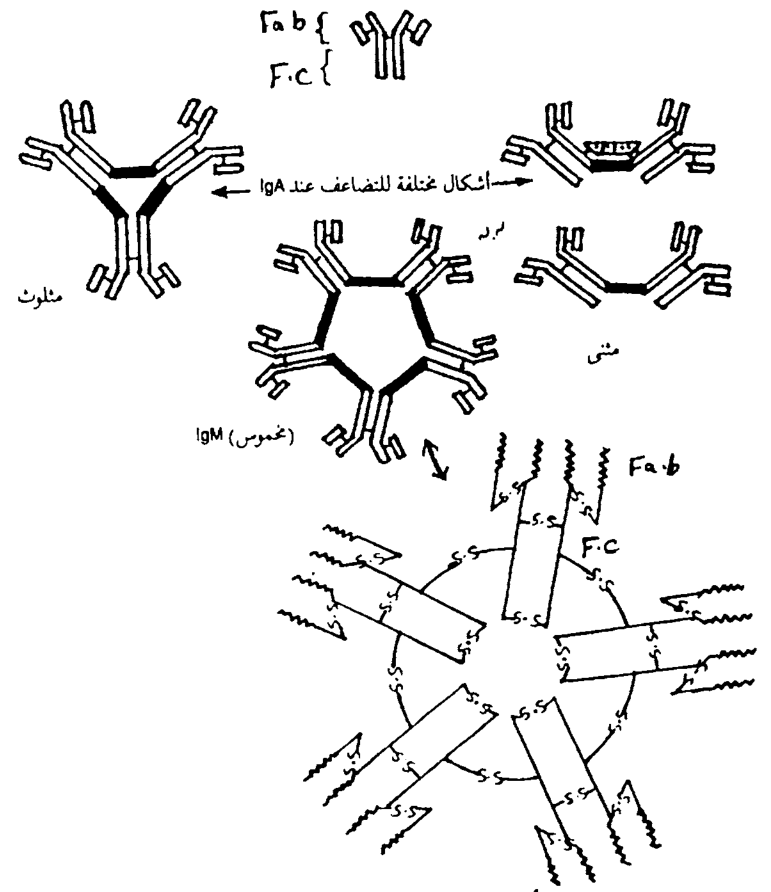
ـ تتمتـع الأضـداد بخـاصـة الاتحاد النوعي مع المستضد الذي حثَّ على تركيبها.

ـ كما قلنـا سابقـاً: تنشأ الأضـداد وتفـرز من قبـل الخـلايا المصورية Plasma Cells بتـواسـط من البـلاعم Macrophages، وعند إجراء رحلان كهربائي لبروتينات المصل، فإننا نشاهد غلوبولينات المصل في الجزء B و γ (انظر الشكل).



الشكل (٢٠) مخطط الرحلان الكهربي لبروتينات المصل الطبيعي، لاحظ موقع الغلوبولينات المناعية فيه.

ـ أظهـرت الدراسات أن الغلوبولينات المناعية Ig على خمسة أصناف وتسمى وفق اسم السلسلتين الثقيلتين الداخلتين بالتركيب:



تمثيـل تخطيطي مبسـط جداً يوضـح البنيـة الحـساسية للغلوبولين المناعي الكِبرَي M (IgM) (الأكثر قدرة على الاتحاد مع المستضدات. تكافؤه ٥ أو ١٠)

الشكل (٢١): تمثيل تخطيطي مبسط جداً لجزيئات الغلوبولينات المناعية في المصل (Ig) IgG أو IgA (موحود) أو IgM

١ً ـ الصنف IgG : وهــو الغلوبــولــين الأوفـر في المصــل (٧٥٪ من غلوبولينات المصل) وتكافؤه المستضدي ٢ (موحود).

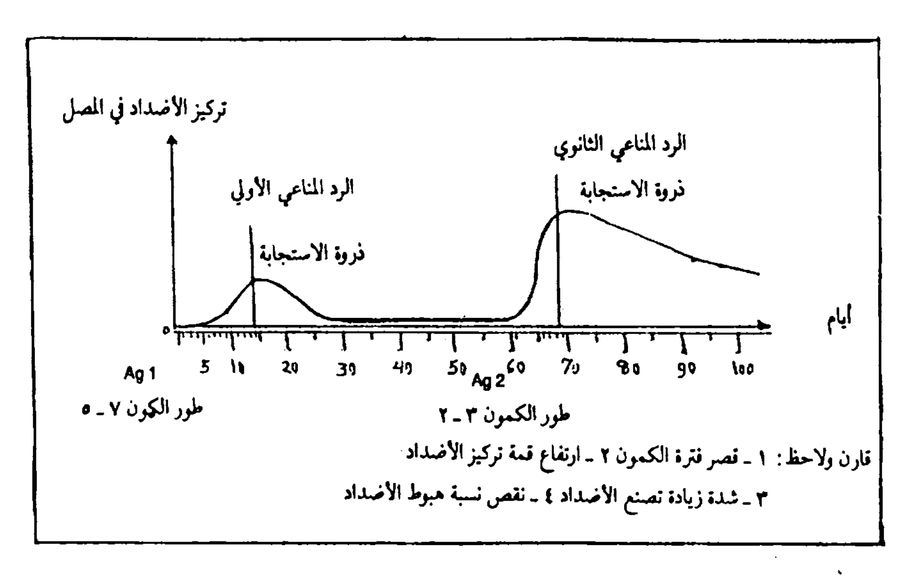
٢ً ـ الصنف IgM : وهـو الغلوبـولـين الكِـبرَي (الضخم) بالمصـل، بكمية أقل بكثير من سابقه وتكافؤه المستضدي ٥ أو ١٠ (مخموس).

٣ ـ الصنف IgA : مسؤول أسـاسـاً عن منـاعـة المفـرزات الحيوية في الجسم: مثــل اللبأ (الصمغـة) ـ مفـرزات القصبات ـ مفـرزات الأمعـاء ـ الـدمـوع . . . وذلك بنوعه الإفرازي المضاعف، تكافؤه المستضدي ٢ أو ٤ أو ٦ حسب تضاعفه (موحود أو ثنائي أو مثلوث).

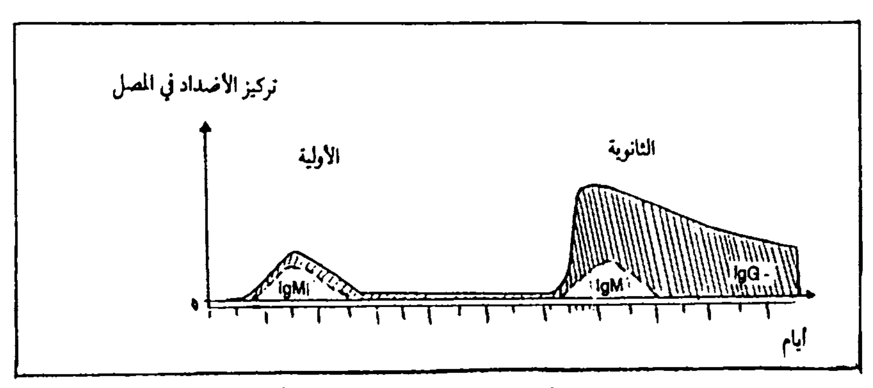
٤ً ـ الصنف IgE : تركيزه قليل، غير أن له دوراً كبيراً جداً في آليات: فرط الحســاسيــة الآني (التأق) ـ نوب الـربـو ـ الشـرى الجلدي . . . وهـو ينجذب إلى الخلايا البدينة والأسِسَة المتواجدة في الأنسجة وحول الأوعية. (موحود).

٥ً ـ الصنف IgD : تركيـزه وضيـع جداً في المصـل، ودوره المعروف إلى الآن كونه مستقبل على سطح الخلايا اللمفاوية. (موحود).

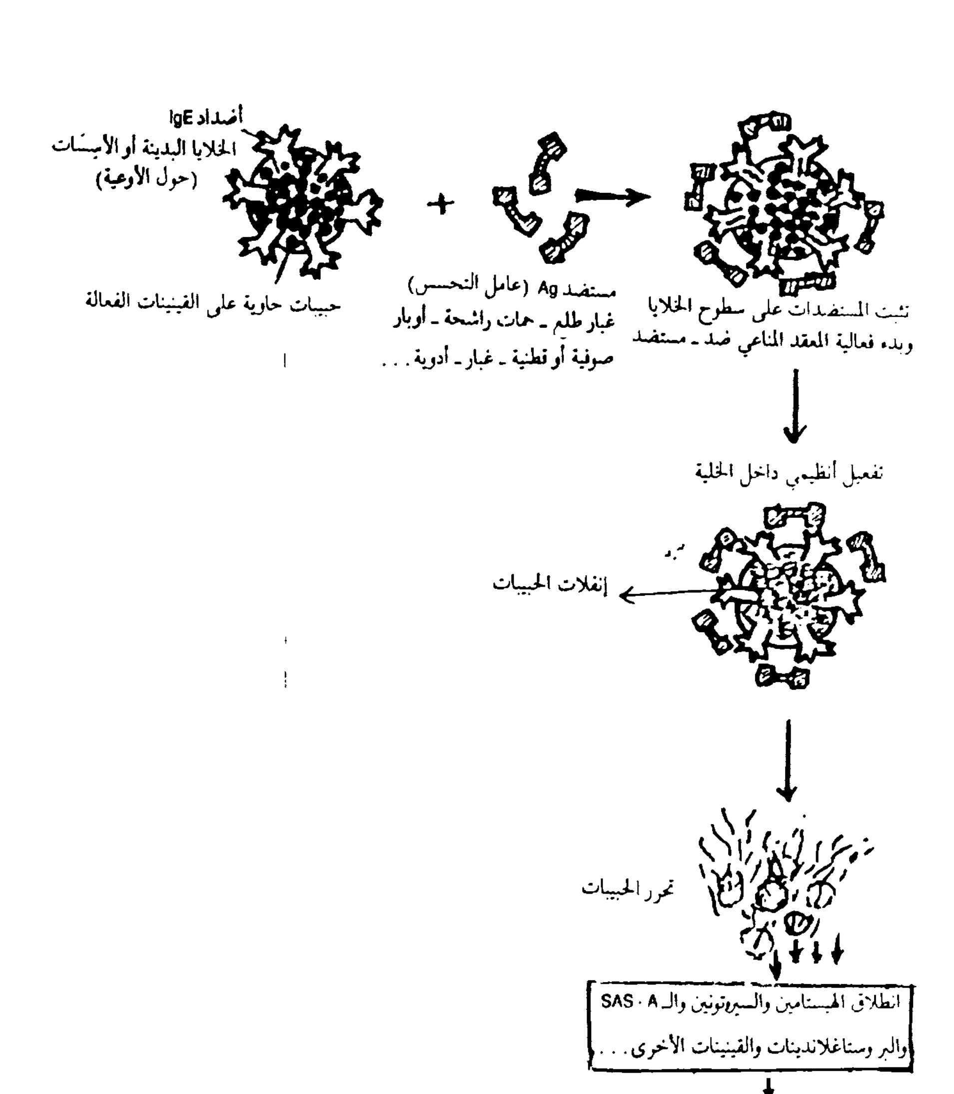
● عنـد دخـول المستضـد Ag للبـدن فإن أول غلوبـولين مناعي يزداد تركيزه هو IgM النوعي ويظهر باكراً في بداية الرد المناعي الخلطي في اليوم (٣ ـ ٥) من دخـول المستضـد، ويصـل لتركيزه الأعظمي في اليوم (١٠ ـ ١٤) تقريباً، وهو قصير الأجل، إذ يبدأ بالتراجع تدريجياً ليحل محله الـ IgG منذ اليوم العاشر تقريباً (راجع الشكل).



الشكل (١٨): مخطط مبسط للإستجابة المناعية الأولية والثانوية عقب دخول المستضد المتكرر



الشكل (١٩) مخطط مبسط لمستويات الأضداد IgG,IgM في الاستجابة المناعية الأولية والثانوية، عقب الدخول المتكرر لنفس المستضد



١ ـ توسع الأوعية الدموية (صدمة بإنخفاض ضغط مفاجىء)
2 ـ تقلص العضلات الملساء (تقبض القصبات مثلاً)
3 ـ ازدياد نفوذية الشعيرات (وذمات)

الصدمة التأقية أو تفاعلات الأرَج المتنوعة
بعد تناول أدوية معينة أو لدغ الحشرات
أو استنشاق مواد معينة

الشكل (٢٢): مخطط مبسط يوضح دور IgE في النمط التأقي من تفاعلات فرط الحساسية

ـ يمكن لنـا أن نعـدّ الغلوبـولينـات المنـاعيـة Ig مستضدات فيها إذا حُقنت لبدن آخر، وهنا تتكون أضداد نوعية مضادة لـ Ig (Ig Anti Ig) .

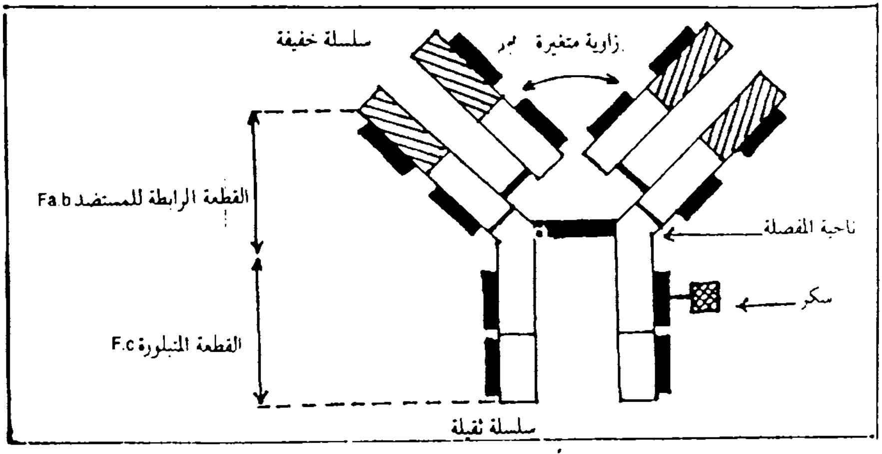
الغلوبولين المناعي	الصيغة الجزيئية	الحالة الفيزيولوجي	مُعامل التثفل	التكافؤ (عدد المواضع الرابطة للمستضد في الجزيء)	الوزن الجزيئي	المتوسط الكهلي بالمصل مغ / د.سل
IgG	$\gamma_2 K_2 - \gamma_2 \lambda_2$	موحود	٧S	٢	١٦٠٠٠٠	١٣٢٠
AgA المصلي	$\alpha_2 K_2 - \alpha_2 \lambda_2$	مواحيد	٧S	٢	١٧٠٠٠٠	
الإفرازي	$\alpha_4 K_4 , \alpha_4 \lambda_4$	مثاني		٤		١٦٠
	$\alpha_6 K_6 , \alpha_6 \lambda_6$	مثاليث	١١ـ١٣S	٦	٣٨٥٠٠,٠٠	
IgM الكِبْري	$\mu_{10} \lambda_{10}$ $\mu_{10} K_{10}$	مخموس	١٩S	١٠ـ٥	٩٠٠٠٠٠	٩٠٠
IgD	$\delta_2 \lambda_2$ $\delta_2 K_2$	موحود	٧S	٢	١٨٤٠٠٠	١٠٠
IgE	$\varepsilon_2 \lambda_2$ $\varepsilon_2 K_2$	مواحيد	٨S	٢	١٨٨٠٠٠	٠,٣

الشكل (٢٣) : جدول الخصائص الحيوية والفيزيائية لأصناف الغلوبولينات المناعية Ig

أدوار الغلوبولينات المناعية عبر حياة الطفل :

ـ تكـون مستـويـات الـ IgM في الطفـولـة الأولى (الـولدان والرضع) منخفضـة جداً، مع نقص مستـويـات المتممـة C̅ (راجـع بحث المتممـة Complement وتكـاسـل فعـل البلعمـة، وكـل ذلك يساهم في زيادة قابلية الطفل للخمج بسلبيات الغرام ويصل الـ IgM لمستوياته الكهلية في غضون الأشهر التسعة الأولى من العمر.

ـ يقـوم الـ IgG الـذي تقـدمـه الأم لوليـدهـا عبر اللبأ، بالدفاع عن الوليد، وهو لذلك يؤخر بشدة قيام الرضيع بصنع أضداده الخاصة من نوع IgG في الأشهـر الثـلاثـة الأولى من الحيـاة، ثم لا يلبث الجـواب المنـاعي للرضيـع أن ينضـج بعـدهـا، وهـا هنـا تبـدأ برامـج التلقيح الوقائي عادة، ويستغـرق الصغـير حتى السنـة الثـالثـة من عمـره لتصـل IgG عنـده إلى المستويات الكهلية.



الشكل (٢٤): تمثيل تخطيطي مبسط جداً لبنية الغلوبولين المناعي (IgG)
(الأكثر وفرة في المصل ٧٥٪ تكافؤه: ٢)

جُملة المتمِّمة Complement System

تتألف جملة المتممة C̅ من زمرة معقدة من الأنظيمات في مجرى الدم وتُرقَّم مقوماتها من C1 - C9 بالأرقام العربية، تجول هذه البروتينات في الدم بشكل عاطل، وثَمة طريقتين رئيستين يمكن بهما تفعيل جملة بروتينات المتممة هما:

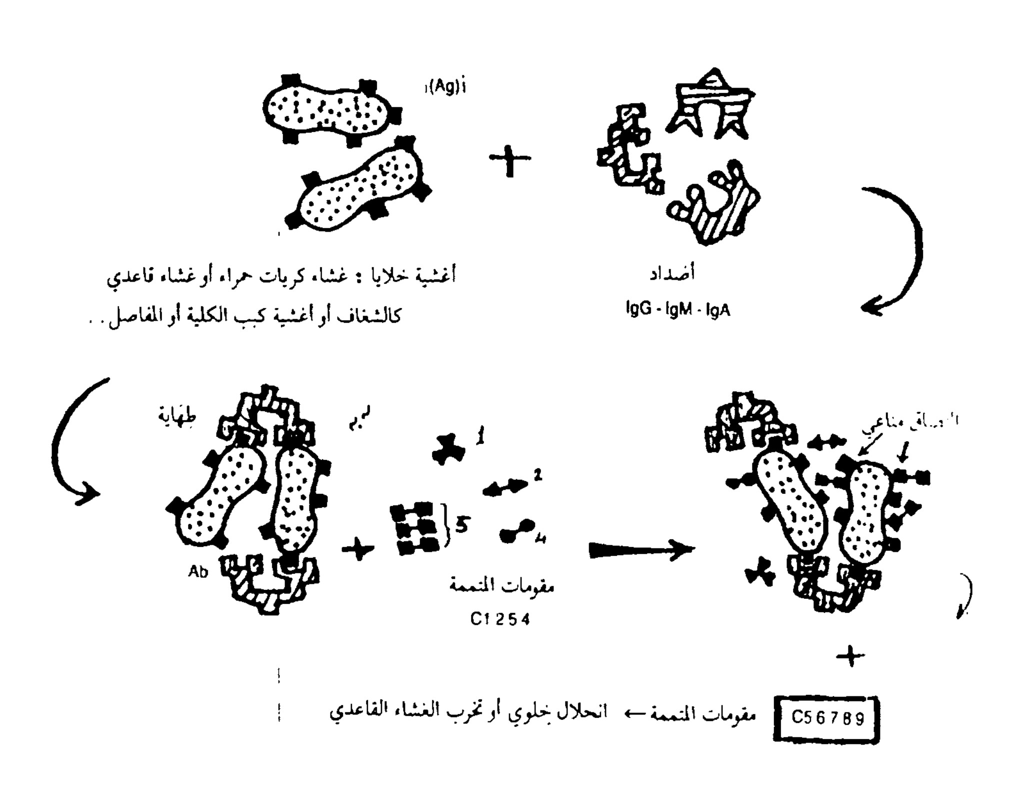
١ - السبيل التقليدية:

إن أي ضد من IgM أو IgG قادر على تفعيل المقوّم الأول C1 في جملة المتممة، وعندئذ تبدأ أحداث المتممة بالتلاحق بتفعيل الأجزاء التالية بالترتيب تقريباً حتى الجزء الأخير (شلال متممي)، وكل نواتج التفعيل والشطر تتعاون بدورها في أن تسبب إستهاجة التفاعل الإلتهابي وتضخيمه أكثر فأكثر بواسطة آليات هامة هي:

أ - **إطلاق التّأق**: إذ ينطلق الهستامين وسائر القينينات من الخلايا البدينة Mast C، وهذا ما يسبب التوسع الوعائي وازدياد النفوذية الوعائية وتقبض القصبات... كل هذا بسبب تفعيل جملة المتممة.

ب - **إطلاق عوامل الجذب الكيماوي**: فتسبب جذب كثيرات النوى وسائر الخلايا الالتهابية إلى مكان التفاعل الالتهابي.

جـ - **إلتصاق أجزاء من المتممة على سطوح الخلايا المُستهدفة**: وبالتالي تحريض التصاق البلاعم وكثيرات النوى بها ومن ثم بلعمة المعقدات المناعية (ضد - مستضد - متممة): والخلية المستهدفة قد تكون:



ما أن تتثبت الغلوبولينات المناعية Ab على المستضدات الموجودة على سطوح الخلايا حتى تُستثار آلية الطِهاية وتتحرَّض مقوِّمات المتممة في حدث الإلتصاق المناعي وزيادة فعل البلعمة .

إن تفعيل المتممة على الأغشية القاعدية (للكلية مثلاً) يؤدي إلى حدوث تفاعل إلتهابي وإرتشاح بكثيرات النوى وإطلاق أنظيمات حالّة للبروتينات تخرب الغشاء القاعدي والغشاء الخلوي مؤدية إلى الانحلال الخلوي .

الشكل (٢٥) : مخطط مبسط لآليات الإنحلال الخلوي وتخرب الأغشية في أمراض المناعة الذاتية

مثل : الرئية المفصلية ـ التهاب كبب الكلية ـ التهاب المفاصل الرثياني ـ الذئبة الحمامية . . .

لاحظ تورّط المتممة بالأحداث المناعية

جرثوماً أو حمة أو خلية سرطانية أو غشاء قاعدياً لوعاء دموي أو لكبب الكلية أو المفصل.

د ـ تخرب سطح الخلية المستهدفة: أو الغشاء القاعدي المستهدف.

٢ ـ السبيل البديلة:

(سبيـل الـبُر وبِـردين): يمكن أن يتم تفعيل بعض مقومات المتممة من C3 مباشرة (مع تحاشي الـ C4, C1, C2) ثم تتابع بعد ئذ نفس المراحل التالية في السبيل التقليدية.

س: ماهي المواد التي تستطيع استهاجة المتممة بالسبيل البديلة؟

ـ يمكن لكثير من المـواد أن تفعّـل المتممـة بالسبيل البديلة، مثل: عديـدات السكـاريـد الشحميـة L.P.S * التي تؤلف الـذيفانات الداخلية للجـراثيم سلبيـة الغـرام، الإينولين، الغلوبولينات المناعية المتكتلة، عامل زعـاف الأفعى، والـزيمـوزان في جدران الخمـيرات، بعض نواتـج المتممة بالسبيل التقليدية (C3b) أيضاً.

---

* L.P.S: عديدات السكاريد المخاطية هي التي تدخل في بنية الجدار الخلوي للعصيات سلبية الغـرام، مثـل السلمونيلة التيفية ونظائرها B,A.. وهي نفسها المستضد الجسمي (O) للجرثوم، ولا يظهر الفعل السمي للجدار الخلوي (ذيفان داخلي) إلا عند موت الجرثوم، وانحلاله.. (ر: أجزاء الجرثوم الرئيسية).

س : ما هي الأهمية الحيوية لجملة المتممة؟

ـ إن **العـوامـل المرضة الغازية** Ag (جراثيم ـ فطور ـ حمات ـ خلايا) تهاجَم كلهـا من قبـل جملة المتممـة حالمـا تقوم الأضداد Ab النوعية بالتفاعل معها وتُفعِّل المتممة بالسبيل التقليدية (تشكل المعقد $\overline{C}$ - Ab - Ag) .

ـ أما في المراحل الأولى من الأخماج البدئية ، حيث لا تكون الأضداد قد تكـونت بعـد ، فيمكن لبعض المـواد الأخـرى المرضة في البدن (ذيفان داخلي . . L.P.S . .) أن تفعل المتممة بالسبيل البديلة .

* من الـدلائـل على تورط المتممـة بالأحـداث المنـاعيـة ، **نقص كميتهـا بالمصل** : ففي حالات التهاب غشاء الكبب الكلوية مثلاً تنقص المتممة C3 بالذات في المصل لأنها «تُستهلك» بالترسّب على غشاء الكبب (المعقد C3 - Ab - Ag) وكـذلـك تستهلك متممـة سائـل المفصـل المصاب بالتهاب المفصل الرثياني الحاد إذ نجد نقصاً واضحاً في عيار: C3 , C4 في السائل المفصلي .

خلاصة المناعة الخِلطية (بالغلوبولينات المناعية Ig)

وتحدث:

* بالتعـاون مع اللمفـاويـات ـ ت ـ T - Lymphocytes ـ المؤازرة ومقومات المتممة $\overline{C}$:

أ ـ تضطلع بالمناعة الفاعلة ضد:

* أخماج الجراثيم السريعة النمو المنتجة للذيفان: (العنقوديات ـ العقديات ـ محبات الدم ـ السلمونيلات ـ البروسيلات ـ الأمعائيات ـ الكزاز ـ الخُنّاق. . .).

* جزء القُفيصة (Capsid) من الحمات الراشحة: (الجدري ـ شلل الأطفال. .).

* بعض الطفيليـات: (المصـورات القـوسيـة Toxoplasma ـ الشـوكـاء الحبيبيـة Eschinococcus (الكيسـة المائيـة) ـ المتحولات الزحارية خارج الأمعاء. . .).

ب ـ قد يستثير المستضد رداً مناعياً خِلطياً ثانوياً (بدخوله الثاني أو أكثر)، وقد لا يستثير إلا رداً مناعياً أولياً مهما تكرر دخوله (مثل L.P.S ـ وبعض الحمات. . .).

جـ ـ قد تكون سبباً لأذية العضوية (فرط التحسس العاجل: Immediate Hypersensitivity): نوب الربو بتواسط IgE ، الصدمة التأقية Anaphylactic Shock عقب حقن: البنسلين أو الدواء أو عقب لدغ

الحشرات مثلاً . . .) .

دِ ـ نتحرى عنها بكشف وعيار الأضداد المتشكلة ، بالزمن الملائم (تفاعلات التراص ـ تفاعلات التعديل ـ تفاعلات التألق المناعي ـ تفاعلات الانتشار المناعي ـ المقايسة الخمائرية E.i.A والشعاعية R.i.A . .) رَ: مبادىء التفاعلات بعد قليل .

خلاصة: المناعة الخَلوية (المُتواسَطة بالخلايا)

وتحدث: بتشكيل خلايا لمفاوية ـ ت ـ فاتكة مع اللمفوكينات، مع إشرافها وقيادتها للبلاعم الكبار (خلايا محسَّسة مقتدرة مناعياً):

أ ★ ـ تضطلع بـ:

١ ـ مقاومة الجسم للأخماج بالعوامل الممرضة التي تنمو ببطء داخل الخلايا (بالتعاون مع الأضداد الخِلطية) مثل:

* أخماج الحُمات: (الحصبة ـ النكاف ـ الجدري ـ الحماق ـ الحلأ المنطقي ـ الحلأ البسيط)،الأنترِ فِرون يمنع إنشاء بروتينات الحماق في الخلايا المخموجة. . .

* أخماج الأوالي: (الليشمانيا ـ المصورات القوسية. . .).

* أخماج الفطور: (المبيضات البيض ـ الرشاشيات. .).

* أخماج الجراثيم: (المتفطرات السلية والجذامية ـ السلمونيلات ـ البر وسيلات ـ الإفرنجي. .).

٢ ـ نبذ الخلايا الورمية الطافرة المتشكلة (الترصد المناعي: (.Immuno Surveillance

٣ ـ التحساس الآجل Delayed Hypersensitivity بتَخَرُّب النسج بعد ٢٤ ـ ٤٨ ساعة من التماس بمستضدٍ سبَقَ أن تحسس له المرء(تفاعل السلين تفاعل الجذامين ـ أمراض المناعة الذاتية ـ إلتهاب الجلد بالتماس. . .).

٤ ـ تنظيم الجهاز المناعي: (لمفاويات ـ ت ـ مؤازرة وأخرى كابتة. . .).

ب ★ ـ نتحرى عن المناعة الخلوية باختبارات دقيقة: (تعداد البيض مع الصيغة ودراسة الأشكال ـ التفاعلات الجلدية ـ اختبارات وظائف اللمفاويات وهجرة الوحيدات ـ نبذ الطعم الجلدي. .).

الفصل الثاني

مبادىء التفاعلات المناعية

Immunological Reactions Principles

يشكل ارتباط المستضد مع الضِدُّ المرافق أساس الغالبية العظمى من التفاعلات المناعية، وإن كان هذا الارتباط لا يتم بصورة بسيطة دائماً، غير أن هناك عوامل فيزيائية عامة يجب مراعاتها عند إجراء الإختبارات المناعية: كمراعاة درجة باهاء الوسط PH ، والرطوبة والملوحة ودرجة الحرارة، والتراكيز المتناسبة بين المحددات المستضدية والمحددات الضدية النوعية الموافقة لحصول التراص الأعظمي (Ab - Ag) . .

- في كثير من تفاعلات التراص المباشر أو اللا مباشر على الصفيحة، تكون درجة الحرارة المناسبة هي درجة حرارة الغرفة (٢٠° م - ٢٥° م) أو ٣٧° م، ونضبط الـ PH المطلوبة في تفاعلات التراص على الأنابيب أو بالطرق الأكثر تعقيداً، بإجراء الاختبار ضمن وقاء* مناسب Buffer (دارئة تُقدم درجة معينة للحموضة)، كما أن مُدّة الحضن والرطوبة ونظافة الأدوات التامة كافة، والإضاءة، وأسلوب قراءة التراص أو الترسيب. . . كلها عوامل لا بد من التقيد بها للحصول على الأجوبة الأقرب للدقة.

- كذلك يجب التأكد من خلوِّ المستحضرات من التلوث الجراثيمي،

---

* الوقاء = الدارئة = Buffer

شدة ترسب المعقد الضدي المستضدي
(Ag - Ab) Complex

تركيز المستضد

ما قبل منطقة التكافؤ
(زيادة الضد)

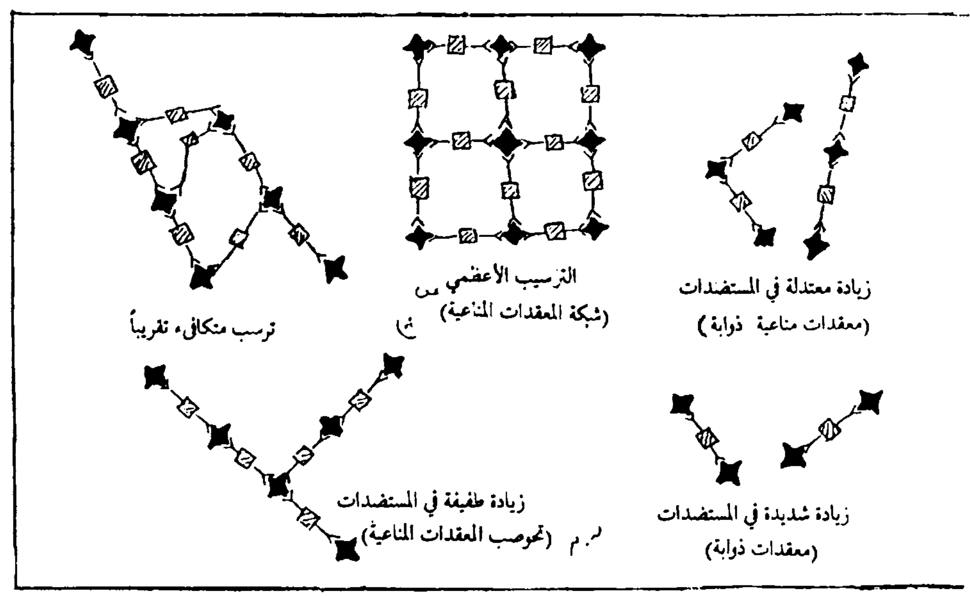
منطقة التكافؤ المثلى
(الاتحاد الضدي المستضدي الأعظمي)

ما بعد منطقة التكافؤ
(زيادة المستضد)

Ag

Ab

شكل (٢٦): يمثل المنحني الكمي لترسب المعقدات المناعية (ضد ـ مستضد) مع ظاهرة المنطقة



الشكل (٢٦) تابع أشكال تمثل تشكل المعقدات المناعية (ضد ـ مستضد) تبعاً لتركيز الأضداد والمستضدات

ومن حسن حفظها في البراد (٢° م - ٦° م)، وكل ذلك بعد إمرار شواهد إيجابية (+) وشواهد سلبية (-) عليها للتحقق من جودتها Controls .

- تحدث الدرجة العظمى بالتراص عندما يكون هناك تناسب جيد بين المُحدّدات المستضدية والروابط الضدية، واختلاف التناسب فيما بينها قد يُخِلُّ بإظهار التراص، وهذا ما نسميه بـ «ظاهرة المنطقة» Zone Phenomenon سواء بطغيان كميات المستضد على كمية الضد، أو بالعكس. (انظر الشكل رقم ٢٦).

- عندما نظن حدوث ظاهرة المنطقة بزيادة تركيز الأضداد، نلجأ إلى تمديد مصل المريض المتحرّىٰ بما يلائم: (بالمصل الفيزيولوجي أو بالوقاء المناسب).

* تفاعلات التراص Agglutination Test :

- عند تماس مُعَلَّق يحوي المستضد (مولد الضد Ag) مع مصل المريض الحاوي على الأضداد النوعية، تظهر كتلة كبيرة أو صغيرة واضحة عيانياً أو مجهرياً، ويتبع ذلك حدوث صفاء الوسط الأصلي (المعلّق) هذه الكتل هي معقدات (ضد - مستضد) نسميها: بكتل التراص. . .

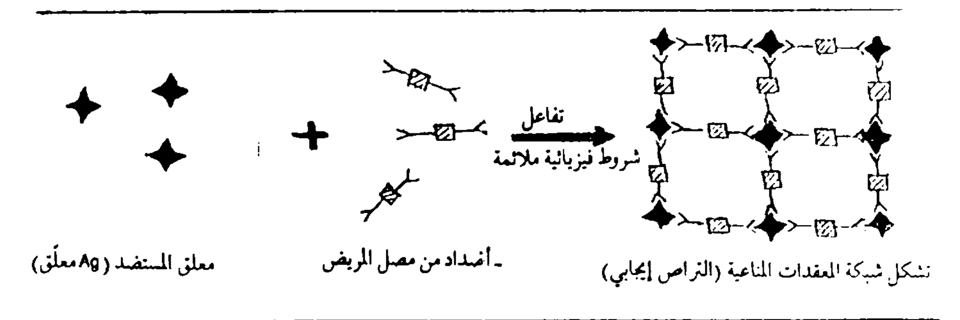
ـ تتمتـع تفـاعلات التراص عموماً بالبساطة، وبالحساسية المقبولة، ويمكن أن تُجرى على الصفـائـح الـزجـاجيـة الشفافة أو السوداء العاتمة أو صفـائـح اللدائن ذات الآبـار المتماثلة الصغيرة، أوعلى الأنابيب، وعادة ما نستعمل كميات من المستضد في اختبارات الأنابيب أكبر منها في اختبارات الصفـائـح الـزجـاجية، والتي بدورها أكبر من كميتها على صفائح اللدائن ذات الآبار. ولكل نوع من الاختبارات حساسية معينة مع تقييم خاص به.

أنواعها: يمكن لتفاعلات التراص أن تكون على نوعين:

أ ـ التراص المباشر:

وهـذا ما يحدث عنـدمـا يتم التفـاعـل بين الضـد والمستضـد المعلق مبـاشـرة، دون واسطة ولا حامل (حصول شبكة المعقدات المناعية مباشرة) بحصول كتلة أو كتل متعاظمة، واضحة عيانياً أو مجهرياً.

وأمثلتـه: تفـاعل فيدال على الصفيحة أو في الأنابيب، تفاعل رايت على الصفيحـة أو في الأنـابيب، كشف ومعـايرة أضداد المصورات القوسية بالصفيحة ذات الآبار ـ اختبارات الزمرة الدموية ABO و RH (الشكل).



الشكل (٢٧): مبدأ إختبارات التراص المباشر

ب ـ التراص اللا مباشر:

ويطبق على المستضدات المُنحلّة الذوّابة، بعد تثبيتها على سطح بعض الذرات الحاملة العاطلة مناعياً Carriers ، مثل كريات اللاتكس*. Latex ، الكريات الحمراء، البانتونيت. . .

يتم التفاعل بين الضد والمستضد هنا بوجود ذلك الحامل العاطل، الذي لا علاقة له بالتفاعل المناعي بالذات، بل ينحصر دوره بإظهار التفاعل عيانياً لتسهُل قراءته (انظر الشكل).

ـ يتم العمل على: صفائح سوداء، وبإضاءة أمامية علوية بيضاء. تجنب الجفاف.

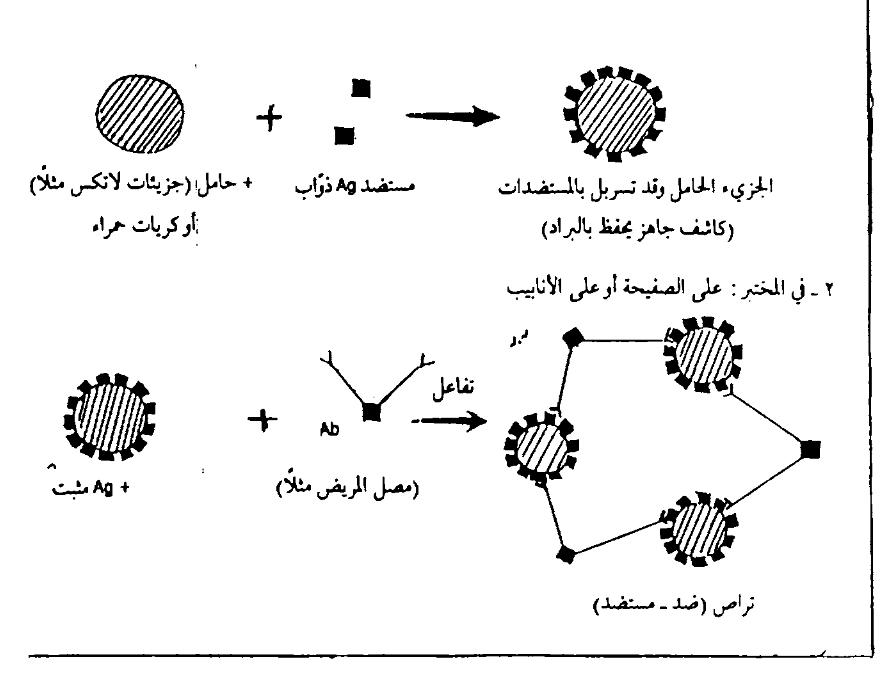
ـ إن تفاعلات التراص اللا مباشر هي أكثر حساسية عادة من تفاعلات التراص المباشر.

ـ من أمثلة تفاعلات التراص اللا مباشر:

---

* ـ جزيئات اللاتكس: هي مكثف لجزيئات البوليسترين الأحادية (نوع من اللدائن)، وهي كريات صغيرة مجهرية بقطر ١ ميكرومتر تقريباً، تتقبل تثبيت المستضدات عليها بشكل كبير جداً، كما أن لها سطحاً واسعاً للتثبيت، إذ أن كرية لاتكس واحدة مثلاً تثبت حوالي 75000 جزيء غلوبولين مناعي (ضد).

حذار من تجميد أي كاشف يحوي كريات اللاتكس لئلا يتخرب، وإنما يحفظ بالبراد (٢ ـ ٦°م).



الشكل (٢٨): مخطط مبسط للتراص اللا مباشر على الصفيحة

أ ـ التراص الدموي اللا مباشر (على الكريات الحمراء المُجَهزّة): مثل:

١ ـ اختبار وولر روز لكشف ومعايرة العامل الرثياني R.F .

٢ ـ كشف العامل الأسترالي (حمة إلتهاب الكبد المصلي).

ب ـ تراص اللاتكس اللا مباشر: كشف ومعايرة الـ RF ـ كشف الـ CRP ـ كشف وعيار ASLO ـ اختبارات الحمل ـ كشف العامل الأسترالي ...

جـ ـ نهي التراص اللا مباشر: إختبارات الحمل . . .

* تفاعلات التعديل : Neutralization Reactions.

المبدأ: إن ارتباط الضد مع المستضد (تشكل المعقد المناعي Ag - Ab) يُنقص أو يغيِّب خاصة حيوية للمستضد.

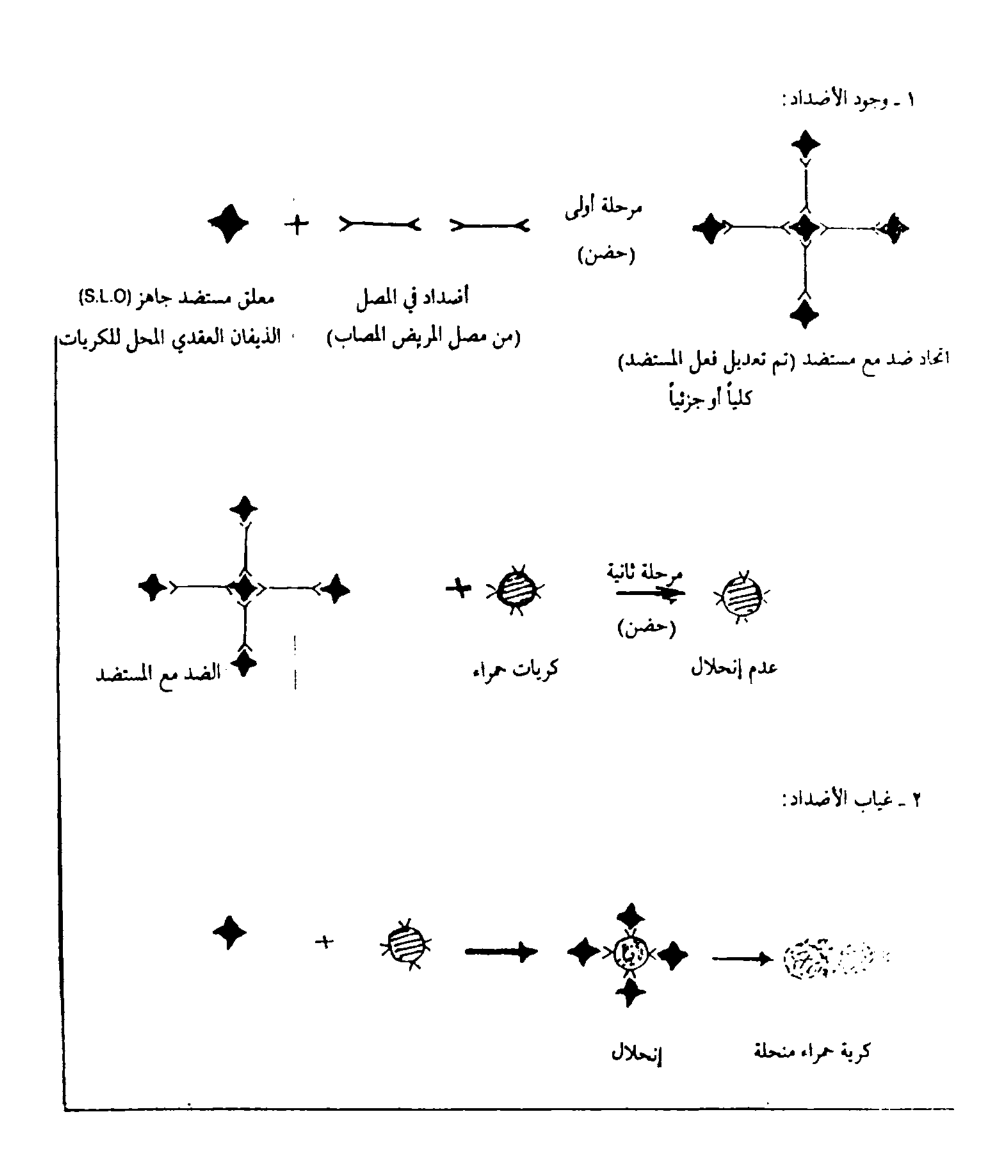
فإذا أخذنا الحالّة العقدية Streptolysine كمستضد وهي التي تقوم بحلٍّ الكريات الحمراء (خاصة حيوية) فإنها ما إن تتحد مع أضداد نوعية مضافة، حتى تُسلب خاصة حل الكريات الحمراء، وهذا دليل على وجود الأضداد بالمصل أصلاً (انظر الشكل).

الأمثلة:

١ - كشف وعيار أضداد الحالّة العِقدية ASLO .

٢ - تفاعلات نهي التراص الدموي للحمات الراشحة (كحمة الحصبة الألمانية):بعض أنواع الحمات الراشحة تتمتع بالقدرة على رَصٍّ الكريات الحمراء لمختلف الأنواع الحيوانية تلقائياً (لوجود الرّاصة الدموية في جزء القُفيصة من الحمة)؛ لذلك فإن مصول المرضى الحاوية على أضداد حُمة الحصبة الألمانية تثبِّط تراص الكريات الحمراء هذه (نهي التراص).

نُلغي مفعول المتممة $\overline{C}$ حتى لا تتداخل في هذا التفاعل، بحضن مصل المريض بالدرجة ٥٦° م لمدة ٣٠ دقيقة، وبذلك نُبعدها عن الفعالية المناعية، وهذا مانسميه عملية:(تخريب المتممة).



الشكل (٢٩): مبدأ تفاعلات التعديل مثال: كشف وعيار A.S.L.O

* تفاعل تثبيت المتممة : Complement Fixation Test

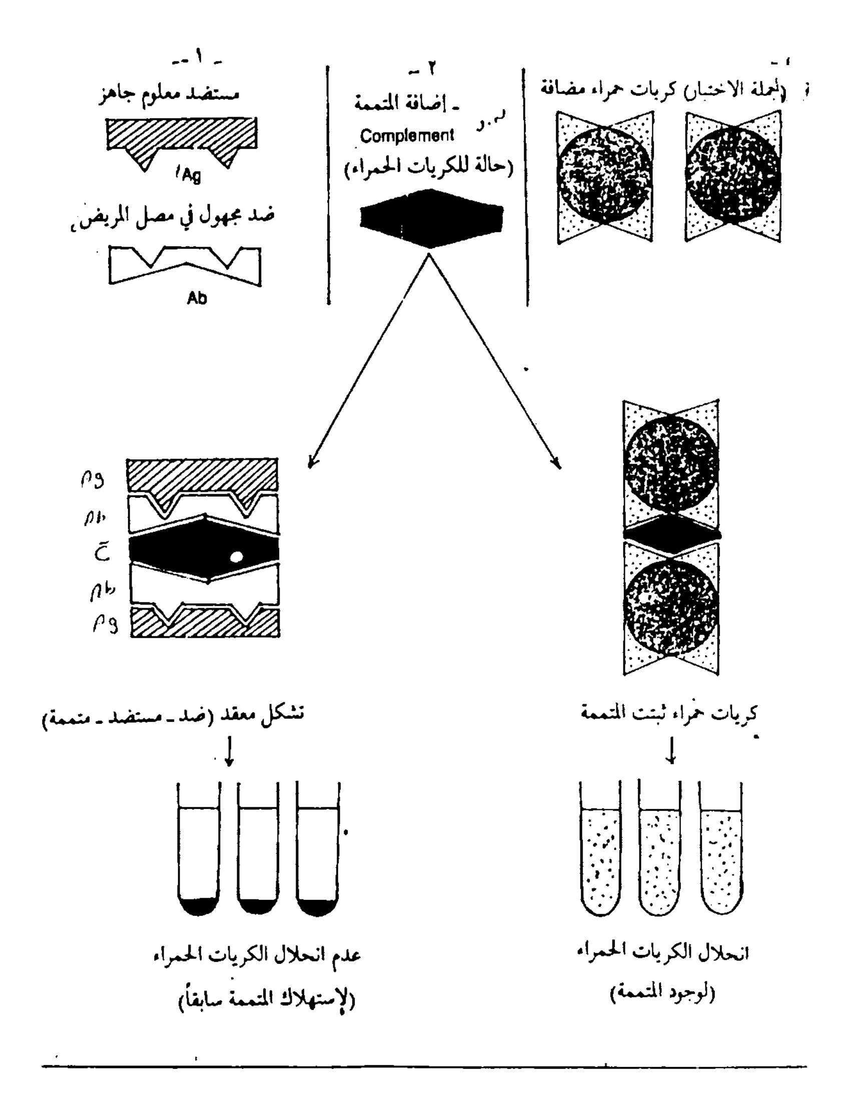
يمكن للمتممـة الحـرة C̄ أن تحل الكـريات الحمراء لوحدها في وسط التفـاعـل؛ ولكن، وقبـل إضـافـة الكـريـات الحمراء إلى وسط التفاعل، نضيف مصـل المـريض (أضـداد) مع المستضـد المعلوم، فإذا تشكل المعقد المنــاعي ضد ـ مستضـد (Ag - Ab)، قام بتثبيت المتممــة الحــرة C̄ معـه: فاستهلكهـا (C - Ab - Ag) ، وهكـذا يمكننا التحري عن استهلاكها بإضافة الكريات الحمراء في الطور الثاني للتفاعل:

١ ـ ففي حال حدوث انحلال للكريات الحمراء فإن هذا دليل على بقاء المتممة حرّة وعدم استهلاكها (عدم تشكل ضد ـ مستضد أصلاً لغياب الأضداد).

٢ـ وفي حال لم يحدث أي انحـلال للكـريات الحمراء فإن هذا دليل على استهــلاك المتممــة بالطـور الأول (وبـالتـالي تشكـل Ag - Ab لوجـود الأضداد).هذا التفاعل له حساسية ونوعية فائقتان.

الأمثلة:

- تحري وعيار أضداد المصورات القوسية Toxoplasma Antibodies titer.
- تحري وعيار أضداد الكيسة المائية (Eschinococcus Antibodies titer)
- تحري وعيار أضداد الكثير من الحمات الراشحة والمفطورات والمتدثرات.



الشكل (٣٠): مبدأ تفاعل تثبيت المتممة.

* تفاعلات الإنتشار المناعي :

(أو تفاعلات الترسيب في وسط هُلامي) Immuno-Diffusion:

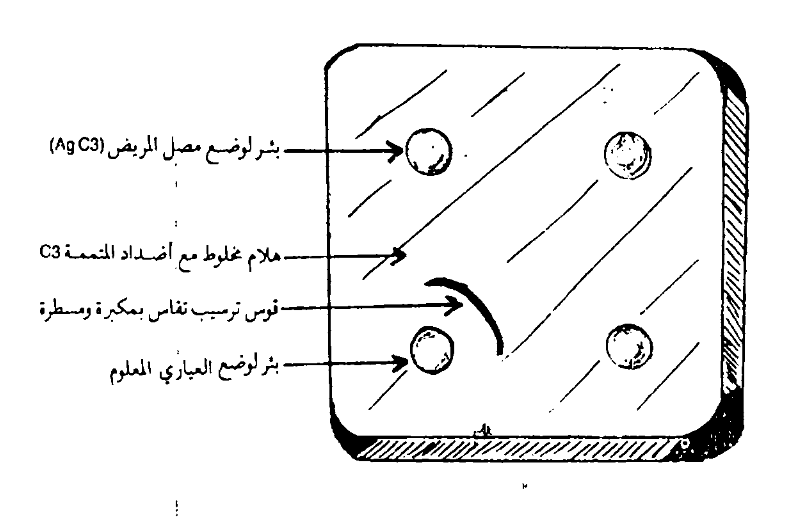
نستعمل في هذه التفاعلات وسطاً هُلامياً (غِراء) يسمح لجزيئات الضد والمستضد بالتفشّي فيه دون أن تتغير خواص تلك الجزيئات، وما إن تنتشر حتى تتلاقى فيما بينها ضمن الهلام، ويتظاهر هذا اللقاء الضدي ـ المستضدي بتشكّل خطوط أو «أقواس ترسيب» ضمن الهلام، واضحة بالعين المجردة أو بالمكبرة، ولا تحدث هذه الأقواس إلا في المناطق التي تتناسب فيها تراكيز الأضداد مع المستضدات. وبهذا الشكل يمكن لنا كشف وعيار المستضد المجهول (أو الضد المجهول).

ـ ترتبط هذه الطريقة إرتباطاً وثيقاً بحركية الجزيئات وحجمها وشحنتها الكهربائية وبزمن الانتشار، والتراكيز الموجودة للمواد ضمن الهلام، وكذلك الباهاء PH ورطوبة الوسط وحرارته.

ـ تصنف هذه التفاعلات إلى :

أ ـ تفاعلات الانتشار المناعي البسيط :

إذ يكون الهلام ممزوجاً سلفاً بالأضداد Ab النوعية المتجانسة التركيز. ولنتدبّر المثال التالي: سنفترض أن الهلام قد مُزج سلفاً بأضداد المتممة (مثلاً) Anti C3، يوضع في الحفرة الجاهزة ضمن الهلام كمية معينة من مصل المريض المتحرى عنه (عندما يكون المطلوب كشف وعيار الـ C3 بمصل المريض Ag): سيتفشّى مصل المريض (الحاوي على C3) خلال



الشكل (٣١): الانتشار المناعي البسيط على الهلام.

زمن معين، ويُشكِّل أقواس الترسيب، التي تقارن بدورها مع شواهد عيارية لاستنتاج تركيز المتممة بالمصل، بمسطرة دقيقة.

أمثلة الاختبار:

- عيار المتممة بالمصل C4 , C3 ، عيار الغلوبولينات المناعية IgG - IgM

- عيار ∝ فيتو بروتين. .

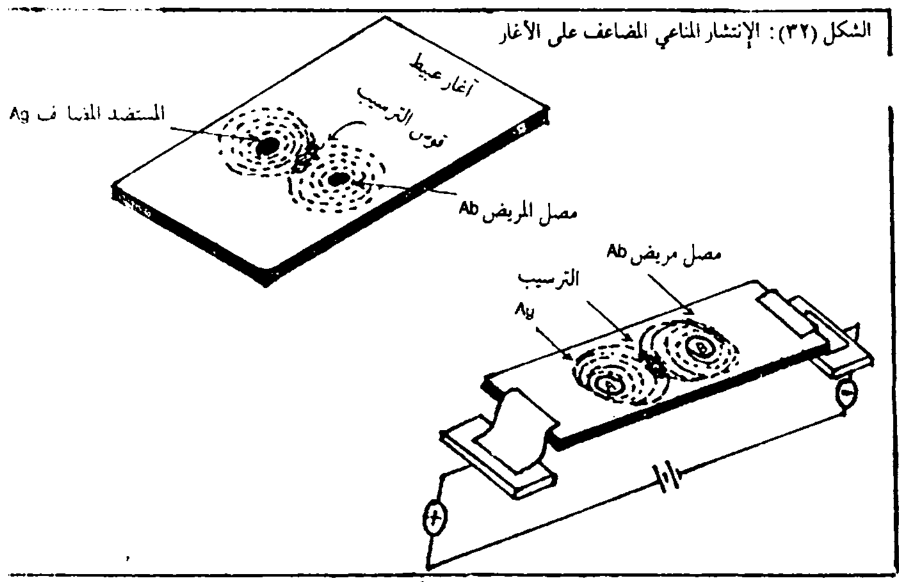
ب ـ تفاعلات الإنتشار المناعي المضاعف:

ويكون الهلام هنا خالياً من الأضداد (عاطلاً)، ويوضع Ag (مصل المريض) في حفرة معينة والـ Ab (جاهز) في حفرة أخرى مقابلة، سينتشر الاثنان ضمن الآغار خلال فترة معينة وسيتلاقيا ويترسبا في المنطقة التي يتناسب فيها تركيزاهما تناسباً مناعياً، مُشكِّلين قوساً ترسيبياً يُقارن مع أقواس عيارية أخرى.

يمكن تسريع هذا الاختبار بتطبيق تيار كهربائي مناسب فنحصل على الانتشار المناعي المضاعف المسرَّع بالكهرباء.

ـ هناك تطبيقات أخرى أكثر تعقيداً في طرق الانتشار المناعي وهي تهدف إلى السرعة والدقة والنوعية والحساسية الأفضل.

الشكل (٣٢): الإنتشار المناعي المضاعف على الآغار



الشكل (٣٢) تابع: الإنتشار المناعي المضاعف على الآغار المسرَّع بالكهرباء

تفاعلات التألق المناعي : Immuno - Fluorescent

* المبدأ :

يمكن إستهاجة ذرات بعض المواد بتسليط الأشعة فوق البنفسجية عليها، وهذا ما يؤدي إلى إصدار إشعاع وامض متألق منها، وهو يستمر ما استمرت الأشعة مُسلّطةً. وهذا هو المبدأ الفيزيائي الذري للتألق.

- يُكشف هذا الشعاع الصادر بمجهر خاص هو «المجهر الومضاني» المزود بالأشعة فوق البنفسجية كمصدر للطاقة (لمبة زئبق) مع منبع ضوئي عادي ومراشح.

إن المواد المتألقة الأكثر استعمالاً هي :

* إيزوثيوسيانات الرودامين (تألّق برتقالي مُحمر).
* إيزوثيوسيانات الفلورسئين (تألق أخضر مصفر فاقع)..

- يمكننا الآن ربط ذرات من هذه المتألّقات مع أضداد (أو مستضدات) نوعية بطرق خاصة دون أي تأثير على خصائص الأضداد (أو المستضدات)، وذلك لإجراء اختبارات التألّق المناعي بنوعيه، خلال فترة حضن يسيرة (٠,٥ ساعة) وبحرارة الغرفة (٢٠ - ٢٥°م) عادة.

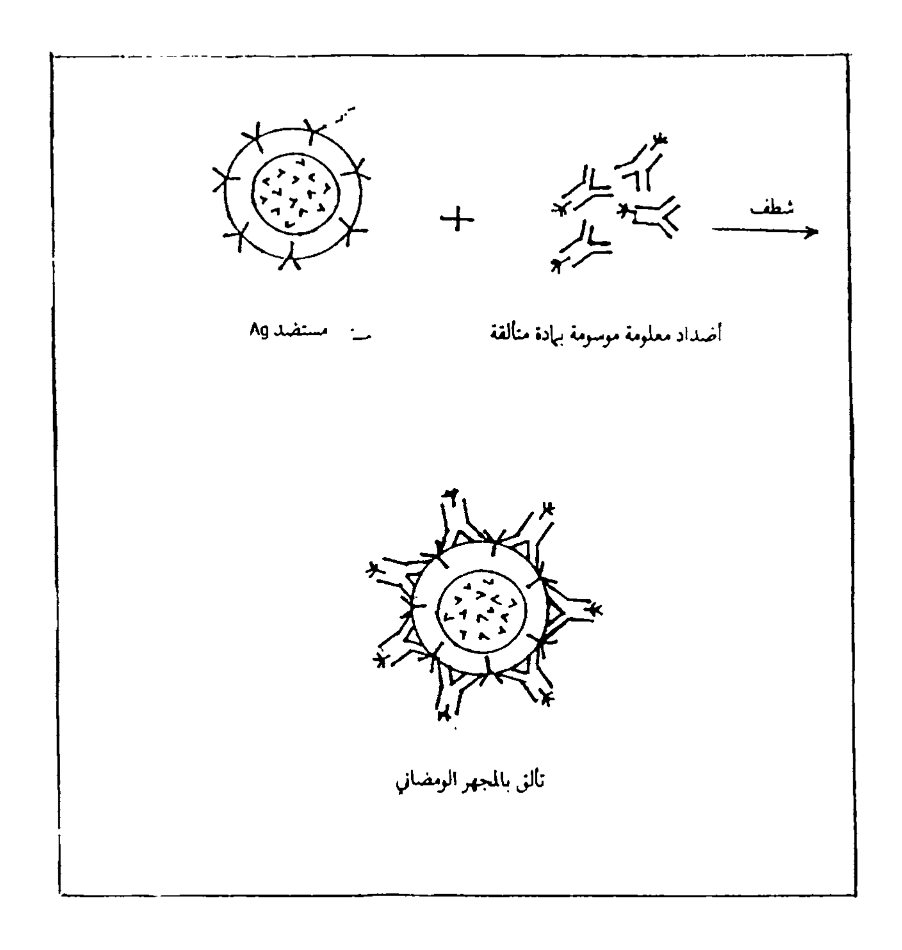
* الطرق :

أ - التألّق المناعي المباشر : Direct I.F

يُعامل المستضد المجهول (مصل المريض) مع الأضداد المعلومة الموسومة بالمادة المتألّقة، ونحضن المزيج لفترة معينة، ثم نغسل لإلقاء

الفائض من الأضداد خارجاً، ثم نفحص الباقي بالمجهر الومضاني.

- إن وجـود التألق علامـة على وجود الأضداد المتألقة النوعية وبالتالي



الشكل (٣٣): مبدأ التألق المناعي المباشر

على وجود المستضد المجهول المتحرَّى عنه (والعكس بالعكس).

- هذا الإختبار مكلِف جداً، ونخسر فيه الكثير من الأضداد النوعية المتألقة في كل مرة على حِدة، كما أن حساسيته منخفضة نسبياً.

- يمكن أن يكون الضد مجهولاً والمستضد المتألق هو المعلوم الجاهز تجارياً.

ب - التألق المناعي اللا مباشر: Indirect I.F.

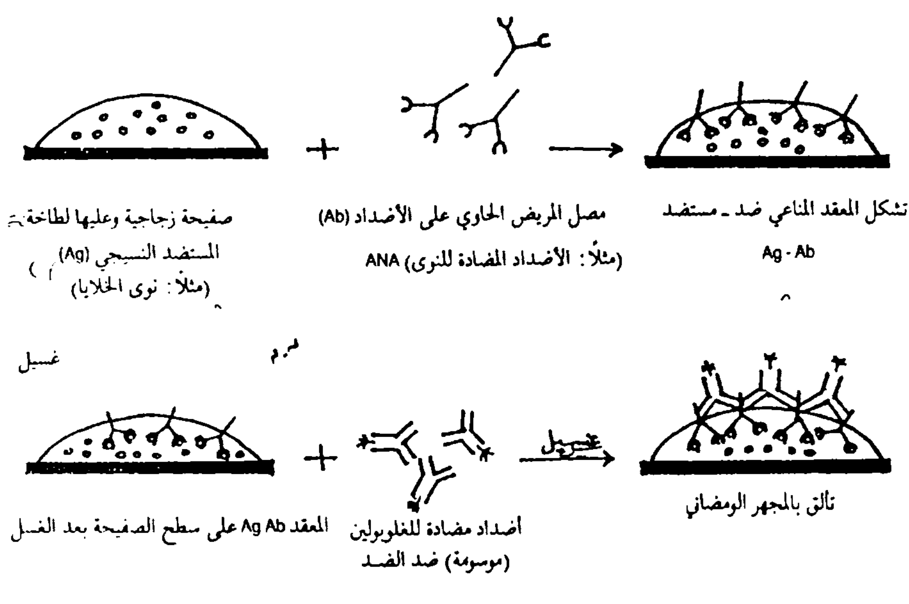
حيث يُعامل الضد المجهول (مصل المريض) مع مستضدات نوعية عادية معلومة، وفي المرحلة الثانية للاختبار نضيف أضداداً نوعية موسومة للأضداد الإنسانية (ضد الضد)، وبعدها نشطف لطرح الفائض ونفحص الناتج **بالمجهر الومضاني**:

إن وجود التألق تحت المجهر، لدليل على وجود الأضداد أصلاً في مصل المريض.

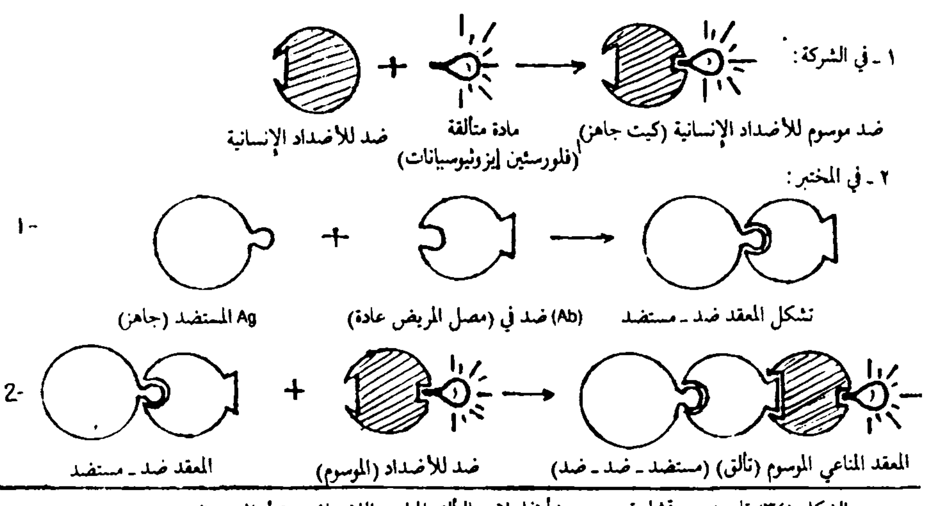
أمثلة الاختبار:

- كشف وعيار أضداد النوى ANA ، كشف وعيار أضداد الدنا DNA ، كشف وجود بعض الحمات الراشحة، كشف وعيار أضداد المصوَّرات القوسية - دراسة الغلوبولينات المناعية على سطح اللمفاويات البائية.

- إن حساسية طريقة التألق المناعي اللا مباشر جيدة، ومن المهم فيها أن تكاليفها أقل بكثير من سابقتها.



الشكل (٣٤): مبدأ التألق المناعي اللا مباشر (أ) تمثيل لخطوات العمل على الصفيحة



الشكل (٣٤) تابع: ب ـ تمثيل ترسيمي مبدأ تفاعلات التألق المناعي اللا مباشر (تقرأ بالمجهر الومضاني)

* المقَايَسَة المناعية الخمائرية

Enzym - Immunoassay / E.I.A (E.L.I.S.A)

المبدأ:

تعتمد هذه المقايسة على ربط جزيء الضد (أو المستضد) بأنظيم معين، ثم نَتَقَصَّىٰ وجود الضد (أو المستضد) مع تركيزه بإضافة ركيزة Substrat ملائمة لذلك الأنظيم بحيث أن لون الركيزة الناتج يتناسب طرداً مع الأنظيم الموجود.

ـ عادة ما ترتبط الأضداد بأنظيمات البير وكسيداز، أو الغلوكوز أوكسيداز أو الفسفاتاز القلوية للإيشريكيات القولونية، وتكون الركيزة المناسبة لكل أنظيم على التوالي:

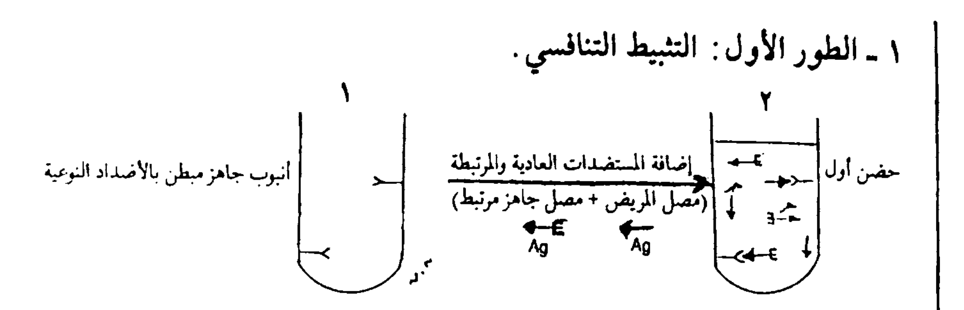
داي أمينو بنزيدين مع وجود الماء الأوكسجيني (تُظهر لوناً رمادياً)، أو الغلوكوز (يعطي لوناً أزرقَ)، أو بيتا نافتول مع ملح داي أزونيوم (يظهر لوناً أحمرَ).

*** مراحل العمل في طريقة أنابيب إليزا لعيار الهرمونات:**

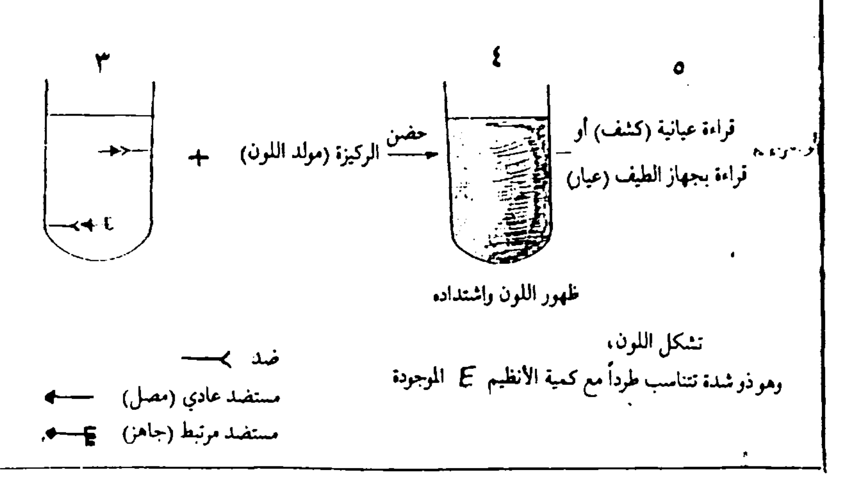
ـ تحضّر الشركة الصانعة أنابيب جاهزة مبطنة بأضداد نوعية للهرمون المطلوب (Anti T3 مثلاً).

١ ـ في الطور الأول نضيف كمية محددة من مصل المريض (الحاوي على Ag الذي هو T3 في مثالنا) ونضيف كمية محددة من مستضد جاهز مربوط بالأنظيم (T3* ـ بيروكسيداز مثلاً).

١ ـ الطور الأول: التنبيط التنافسي.



٢ ـ الطور الثاني: إضافة مولد اللون «الركيزة» ومن ثم قراءة شدة اللون الناتج.



الشكل (٣٥): مبدأ اختبارات المقايسة المناعية الخمائرية E.L.I.S.A (E.I.A)

ـ في هذا الحضن الأول يحصل اتحاد بين أضداد بطانة الأنبوب من جهة، وكل من المستضدات العادية (T3) مع **المستضدات المرتبطة بالأنظيم** أيضاً (★T3 ـ بير وكسيداز) من جهة أخرى،ويتم ذلك بشكل تنافسي تابع لتركيز كل منهما نسبة للآخر (تثبيط تنافسي).

ـ نقوم بعملية إلقاء الفائض مع الغسيل فتبقى الأضداد المبطنة لجدار الأنبوب متحدة مع المستضدات العادية (T3 من مصل المريض) والمستضدات المرتبطة بالأنظيم (بير وكسيداز ـ ★T3) أيضاً.

ـ وهنا نلاحظ أن تركيز المستضدات العادية (T3) يتناسب عكساً مع تركيز المستضدات المرتبطة، بعلاقة لوغاريتمية.

٢ ـ في الطور الثاني للتفاعل (الحضن الثاني) نضيف الركيزة المناسبة للأنظيم (Chromogen = مولد اللون) (داي أمينو بنزيدين في مثالنا) فيظهر لون يمكن قياسه بمقياس الطيف (فوتومتر) وبطول موجة معين.

*** انتبه وتفكّر:**

إن شدة اللون الناتج تتناسب عكساً مع تركيز المستضد العادي (T3 بمثالنا) بعلاقة لوغاريتمية.

ـ تُقارن شدات الامتصاص (A) الناتجة، مع امتصاص مصول عيارية جاهزة معلومة لاستنتاج تركيز المستضد الموجود في مصل المريض (T3 بمثالنا:مصول عيارية معلومة للـ T3) (منحني بياني).

- يمكن إجراء هذه الاختبارات على بطانة أنابيب كبيرة (Macro - E.L.I.S.A) ؛ أو على الصفائح ذات الآبار الدقيقة (Micro - E.L.I.S.A) بإضافة كميات أقل من كافة الكواشف واختصار الأزمنة والمواد.

الأمثلة :

عيار هرمون LH - FSH - T4 - T3 - برولاكتين - الإنسولين - IgE - ديجوكسين . . . (بالطريقة الدقيقة أو العادية لـ: بيوميريو - بوهر نجرمانهايم . .).

المقايسة المناعية الشعاعية

Radioimmunoassay / R.I.A

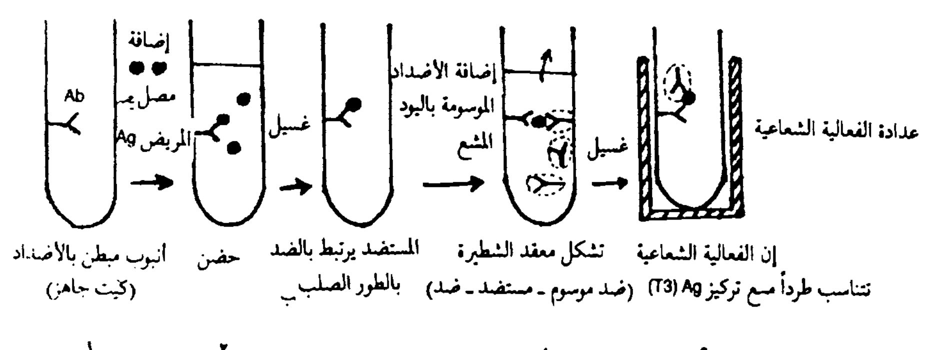
المبدأ:

نفس مبدأ المقايسة المناعية الخمائرية، إلا أن الأضداد تُربط مع مادة مشعة (أو يدخل في تركيبها ذرة مشعة)، كاليود ^{131}I أو ^{125}I، ويحصل التثبيط التنافسي بين المستضدات العادية Ag (من مصل المريض) والمستضدات المشعة ($Ag-I^{131}$) للارتباط مع الأضداد على بطانة الأنابيب الجاهزة، أو الحرة المضافة. وفي النهاية نقيس النشاط الشعاعي المتبقي بالأنبوب بواسطة عدادة جايجر Gamma Counter، ويكون مقدار النشاط الشعاعي الناتج متناسب عكساً مع تركيز المستضد العادي (هرمون المريض)، وتتم مقارنة الأرقام مع عياريات معلومة جاهزة لاستنتاج تركيز هرمون المريض في المصل.

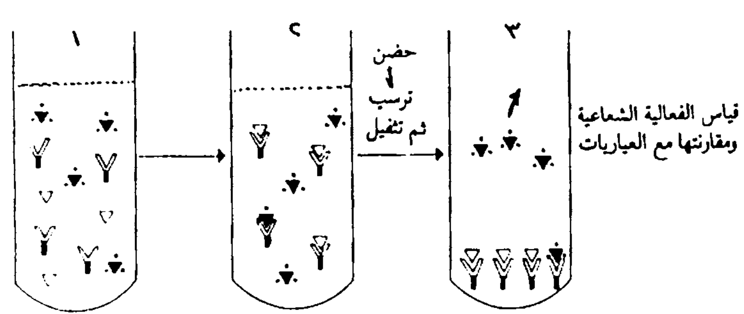
الأمثلة:

المعايرات الهرمونية: TSH - T4 - T3 ـ كورتيزول ـ LH - FSH ـ برولاكتين ـ إنسولين ـ هرمون النمو GH ـ كشف هرمون β-HCG في دم المرأة الحامل....

* لا ننسى أن هناك تعديلات متعددة على طرق الـ EIA و RIA تستخدم تقنيات مستحدثة أسهل وأدق للتعامل فبدلاً من تجهيز الأنابيب المبطنة بالأضداد (وهي عملية دقيقة ومكلفة)، يطبّق الاختبار على أنابيب جاهزة



آ-الشكل ٣٦ : مخطط مبسط لمبدأ اختبارات المقايسة المناعية الشعاعية R.I.A الأقدم.من نمط (ساندويش)



مستضد عادي (هرمون من مصل المريض)
مستضد موسوم (هرمون مشع)
أضداد نوعية للهرمون

١ ـ إضافة :(مصل المريض + مستضد موسوم جاهز + أضداد نوعية جاهزة معاً.

٢ ـ الاتحاد مع الأضداد: وتشكيل (مستضد موسوم ـ ضد) + (مستضد عادي ـ ضد) وهي مرحلة التثبيط التنافسي بين نوعي المستضدات.

٣ ـ إلقاء الطافي بعد التثفيل ومن ثّم قراءة الفعالية الشعاعية.

لاحظ: أن شدة الفعالية الشعاعية الناتجة تتناسب عكساً مع عيار الهرمون في مصل المريض!

الشكل (٣٦) بـ ـ الطريقة الحديثة المعدلة.

عادية غير مبطنة، ويُضاف لها: مصل المريض (T3) مثلاً + T3 موسوم جاهز + أضداد الـ T3 الجاهزة.

- وبعد الحضن اللازم، تُضاف مادة بولي إيتيلين غليكول مثلاً P.E.G، فتسبب ترسب المعقدات المناعية Ag - Ab العادية والموسومة، في قرارة الأنبوب.

- يُغسل الأنبوب ويلقى بالطافي. وتبقى الرسابة لوحدها حاوية على المعقدات المناعية (Ag–Ab) (Ag*– Ab)

يتم قياس النشاط الشعاعي في الرسابة بعدادة جايجر Gamma Counter، خلال زمن معين ثابت.

- إن كمية النشاط الشعاعي الناتجة تتناسب عكساً مع تركيز الهرمون (T3 في مثالنا) في مصل المريض.

- تقارن النتائج مع نتائج مصول عيارية معلومة لاستخراج التراكيز الهرمونية (منحني بياني).

الفصل الثالث

الاختبارات المناعية الشائعة

Immunological Tests

قبل البدء بسرد بعض الاختبارات المناعية الشائعة، لا بد من فهم مصطلحين هامين:

١ ـ الحساسية Sensibility:

إن حساسية إختبار مناعي ما لكشف الأضداد (أو المستضدات) هي: «أقل كمية من الأضداد (أو المستضدات) التي يمكن كشفها بذلك الاختبار» فنقول مثلاً أن الاختبار الذي يكشف ٢, ٠ وحدة/مل حساس أكثر من ذلك الذي يكشف ٥, ٠ وحدة/مل.

٢ ـ النوعية Spescificity:

إن نوعية اختبار مناعي ما، هي: «مدى تقيّد ذلك الاختبار في كشف الأضداد (أو المستضدات) النوعية بالذات دون تداخل الأضداد الأخرى إن وجدت».

١ ـ إختبار فيدال Widal Reaction:

وهو من تفاعلات التراص المباشر، ويطبّق لكشف الإصابة بالسلمونيلة التيفية أو نظائرها، إذ يتمّ إتحاد أضداد السلمونيلة الموجودة في مصل المصاب، مع المعلّقات المستضدية النوعية المعلومة (جاهزة تجارياً).

ـ إن أهم أنواع السلمونيلات المتحرّى عنها بتفاعل فيدال، والتي

تسبب الحمى المعوية، ثلاثة أنواع هي:

* **السلمونيلّة التيفية S.Typhi: T**: أو عصيات إيبرت أو سلمونيلة D؛ ولها مستضدان نوعيان:

مستضد جسمي T (O)، وهَدبي T (H). (رَ: أهم المستضدات الجرثومية ـ الفصل الأول).

* **السلمونيلّة نظيرة التيفية S.Para.A: P.A** ولها مستضدان نوعيان: جسمي P.A (O)، وهَدبي P.A (H).

* **السلمونيلّة نظيرة التيفية S.Para.B: P.B** ولهامستضدان نوعيان: جسمي P.B (O) وهدبّي P.B (A).

ـ ومن الملاحظ بدراسة المُحِدِّدات المُستضدية، أن هناك قرابة مستضدية واضحة بين المستضدات الجسمية (O) للأنواع الثلاثة، وبالتالي فإن أضداد P.A (O) أو أضداد P.B (O) يمكن لها أن تتحد مع المستضد T (O)، أوبالعكس (بشكل أضعف، وبالتمديدات المنخفضة) في حين أن التصالبات المناعية بين أضداد (H) الثلاثة: نادرة. (رَ: النوعية والتصالبات المناعية الفصل الأول).

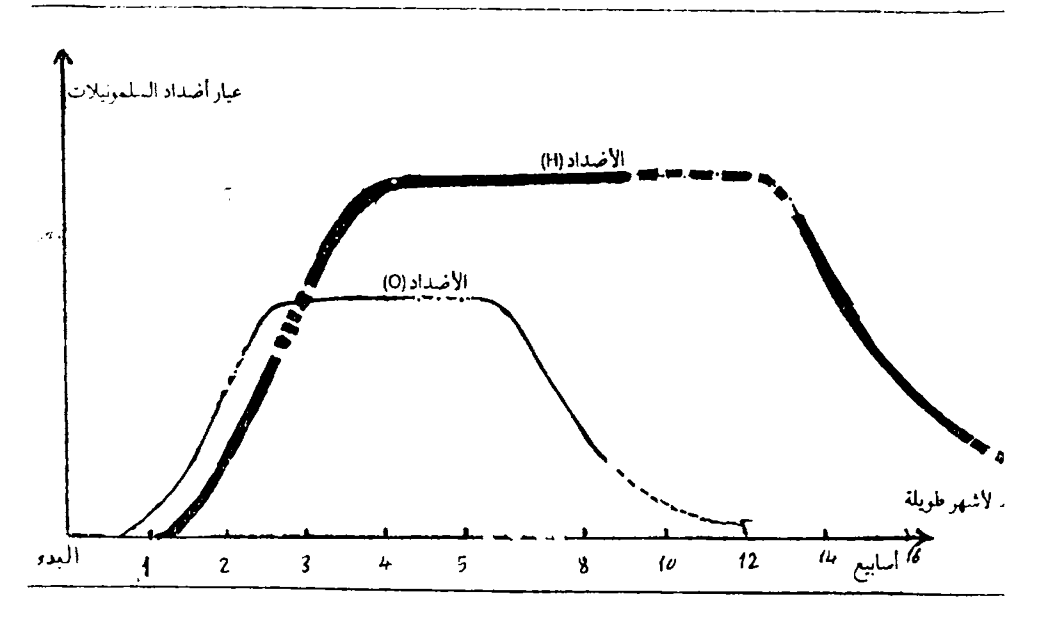
ـ وهكذا نقول:

إن ارتفاع الأضداد الجسمية Anti: (O) يدل على إصابة حديثة.

وإرتفاع أضداد Anti (H) من نوع معين يدل على نوع السلمونيلة المسببة للإنتان (مثال: عيار أضداد O ← 1:160 و PA(H) ← 1:320 والباقي

والباقي سلبي. الدلالة: خمج بنظيرة التيفية (A).

- ترتفع الراصّات الجسمية (O) حوالي اليوم ٦ - ٨ من بدء المرض (أول الأسبوع الثاني)، وتبلغ ذروتها في الأسبوع الثاني والثالث، وتستمر حتى الأسبوع الخامس حيث تنخفض بعده، في حين ترتفع الراصات الهدبية (H) حوالي اليوم ٨ - ١٢ من المرض، وتبلغ ذروتها في نهاية الأسبوع الثاني والثالث، إلا أن عيارها عندئذٍ يفوق عيار الأضداد الجسمية، وتستمر هكذا حتى الأسبوع الرابع إذ تبدأ بالانخفاض البطيء، وقد يبقى عيار الأضداد (H) عالياً لأشهر وقد يستمر لسنة، كأنه «ندبة مناعية نوعية» على



الشكل (٣٧): منحني بياني لأضداد السلمونيلات.

الإصابة القديمة بالسلمونيلة.

ـ يطبق تفاعل فيدال بطريقتين:

*** تراص مباشر على الصفيحة:** دقة أقل، حساسية أقل، أسرع، وأقل تكلفة، شائع الاستخدام.

ـ حضّرت الشركات المناعية (غاما ـ S.A.S - L.D.C) أربعة مستضدات مكثفة للسلمونيلاّت، لإجراء اختبار فيدال على الصفيحة:

معلق مستضدي مكثف (O) .T ـ معلق مستضدي مكثف (H) .T .

معلق مستضدي مكثف (H) P.A ـ معلق مستضدي مكثف (H) P.B .

العمل:

على صفيحة زجاجية شفافة جافة ونظيفة، مقسمة إلى أربع حجرات، مع وجود أرضية قاتمة، وإضاءة أمامية سفلية بيضاء، نضيف على مراحل كما يلي:

١ ـ قطرة عيارية من المستضد (حوالي ٥٠ ميكروليتر) + ٥ ميكروليتر مصل المريض. نمزج بقعر أنبوب زجاجي نظيف أو بعود «بلاستيك» مع الفرش والتدوير، ونلاحظ: إذا حصل التراص خلال ٢ ـ ٣ دقائق، فهذا يعني أن تركيز الضد الموافق يساوي أو أكثر من ١:٣٢٠ وإن لم يحصل التراص نُكمل:

٢ ـ فنضيف ٥ ميكروليتر ثانية من مصل المريض فوق ما سبق، ونمزج مع التدوير، ونلاحظ: أن حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ١:١٦٠

وإن لم يحصل التراص نُكمل:

٣ ـ فنضيف ١٠ميكروليتر مصل المريض فوق ما سبق، ونمزج مع التدوير ونلاحظ: حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ٨٠ : ١،وإن لم يحصل نُكمل:

٤ ـ فنضيف أخيراً ٢٠ ميكروليتر مصل مريض فوق ما سبق ونمزج مع التدوير، ونلاحظ: أن حصول التراص يعني أن تركيز الضد الموافق ٤٠ : ١ وإن لم يحصل نعطي النتيجة: سلبي للضد الموافق (–) .Neg .

ـ نجري ما سبق على المستضدات الأربعة. لاحظ أننا نستخدم قطرة عيارية وحيدة من كل مستضد، والإضافات تكون لمصل المريض بالتدريج.

ـ إن تراص الـ (O) ناعم ودقيق، وتراص الـ (H) أكبر وأوضح، أما تراص البروسيلات (رايت) فهو أكثر وضوحاً.

ـ تجنب الجفاف، ولا تزيد من قطر دائرة المستضد عند المزج.

*** تراص مباشر في الأنابيب:** دقة أفضل، حساسية أفضل، أبطأ، وأكثر تكلفة بكثير ولا يُجرى إلا في المراكز العلمية.

التقييم: نتوجّه لوجود إصابة بالسلمونيلة عندما يكون عيار الأضداد الجسمية 1:100 إلى 1:160 أو أكثر عند أخذ العينة في مطلع الأسبوع الثاني، وارتفاع الأضداد (H) يدل على نوع السلمونيلة المسببة.

ـ نتأكد من التشخيص عند إعادة الاختبار بنفس الأيدي والكواشف

والمخبر، ثانية، بفاصل ٢ ـ ٤ أيام، وعند الإصابة الأكيدة نلاحظ حصول ارتفاع عام في عيار الأضداد الجسمية والهدبية ٢ ـ ٤ أضعاف ماكان عليه في البدء.

التصالبات:

يمكن لبعض الحـمات الـراشحـة (حمـات الأنفلونـزا) والعصيـات الليمـونيـة Citrobacter وبعض ذراري الإيشـريكيـات القولونية واليرسينيا السليـة الكـاذبـة، أن تسبب ارتفـاعـاً في عيـار الأضـداد (H) أو (O)، لكن العيارات تبقى منخفضة عموماً (لا تتجاوز 1:40 - 1:60 عادة) وتستمر لفترة وجيزة فقط مع تراص ضعيف.

م: يطبق اختبـار رايت Wrigth test بنفس طريقـة وأرقـام اختبـار فيـدال، ويطبق رايت لكشف أضـداد الـبر وسيـلات المـالطيـة أو المجهضة (الحمى المـالطيـة)، مع تأخـر زمني لأسبـوع، إذ قد تستغرق الأضداد مدة أسبوعين تقريباً حتى تصبح قابلة للكشف والعيار باختبار رايت.

٢ ـ كشف وعيار أضداد الحالّة العقدية:

Anti - Streptolysin O / A.S.L.O

ـ تسبب **العقـديـات المقيحـة A** أخماجاً متنوعة، **بآلية مباشرة**: كما في التهاب اللوزات الجرثومي القيحي الحاد، والتهاب شغاف القلب الجرثومي تحت الحـاد وأخمـاج الجلد (القـوباء والحمرا. . .) أو **بآلية مناعية غير مباشرة**: عن طريق تداخـل ذيفـاناتها الخارجية بأمراض المناعة الذاتية (التهاب كبب

الكلية ـ التهاب شغاف القلب ودساماته بما يسمى بالرثية القلبية ـ الرثية المفصلية . . .) .

ـ تفرز العقديات Streptococcus ، **منتجات سمية (ذوفانات)** خارج خلوية متنوعة أهمها : الذوفانات العقدية الحالّةDNA.ase ، هيالورونيداز، ستر بتوكيناز. . .

ـ تفرز ٩٠٪ من المكورات العقدية زمرة A (العقديات المقيّحة) خميرة **حالّة لدم الخروف تعمل بجو يحوي الأوكسجين** (الحالّة العقدية S.L) وأخرى تعمل **بجو قليل** الأوكسجين (الحالّة العقدية O) نسميها الحالة العقدية (O) أي S.L.O (Strepto. lysin. O) .

ـ نستطيع دراسة أثر الحالّة الدموية الأولى S على الأغار المدمى بدم الخروف منزوع الليفين، وغالباً ما يكون الانحلال من نمط β (تام) ؛ في حين أننا نلجأ لعيار أضداد الحالة العقدية (O) في مصل المريض المصاب كعلامة على الخمج العقدي وذيفاناته، إذ يظهر لدى ٩٠٪ تقريباً من المرضى المصابين حديثاً بخمج العقديات زمرة A ، ارتفاع في عيار أضداد الحالة العقدية ASLO كدليل على الإصابة العِقدية الحديثة ؛ أو القديمة نوعاً ما (شهور) .

ـ عند حدوث الخمج العِقْدي ، تزداد الـASLO بدءاً من اليوم السابع تقريباً (الأسبوع الثاني للإصابة) وتصل إلى تركيزها الأعظمي في الأسبوع ٤ ـ ٦ من البدء، ويبقى تكرار العيار لأكثر من مرة ـ كما هو الحال في الاختبارات المناعية ـ بفاصل أسبوع أو أسبوعين ذو أهمية تشخيصية كبيرة؛

وتستمر الأضداد لمدة شهور وربما تبقى لسنة أو أكثر.وهكذا نلاحظ أن ليس كل ارتفاع في عيار ASLO دليلاً على إصابة حديثة فقط ، فقد تكون قديمة لأشهر.

- القيم الطبيعية: عند الأطفال: حتى ٢٥٠ وحدة تود*.

عند الكهول: حتى ٢٠٠ وحدة تود.

● يمكن كشف الـ ASLO وعيارها بعدة طرق:

١ - بطريقة اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة: سريعة - دقة وحساسية أقل. (رَ: التراص اللا مباشر على الصفيحة - الفصل الثاني).

٢ - بتفاعل تعديل: بوجود SLO جاهزة مع وقاء خاص ودم خروف مغسول مع سلسلة تمديدات لمصل المريض: أبطأ - نوعية - دقة وحساسية أفضل (راجع تفاعلات التعديل):

العمل:

١ - حضِّر تمديدين اثنين لمصل المريض، في وقاء فسفاتي (PH=6.6∓0.1) كما يلي:

• تمديد A (١ : ١٠٠): ٢ مل وقاء + ٢٠ ميكروليتر مصل المريض.

• تمديد B (١ : ٣٠٠): ٠,٤ مل وقاء + ٠,٢ مل من التمديد A السابق.

---

* - وحدة تود اصطلاحاً: هي مقلوب تمديد المصل.

٢ ـ إملأ أنابيب جافة ونظيفة كما يلي (سلسلة تمديدات بالوقاء):

رقم الأنبوب	١	٢	٣	٤	٥	٦
التمديد النهائي الناتج	١:١٠٠	١:٢٠٠	١:٤٠٠	١:٨٠٠	١:٦٠٠	١:١٢٠٠
وقاء الـ ASLO	—	٠,٥ مل	٠,٥ مل	٠,٥ مل	٠,٥ مل	٠,٥ مل
مصل ممدد A	٠,٥	٠,٥ مل	٠,٥ مل	٠,٥ مل (القاء)	—	(القاء)
مصل ممدد B	—	—	—	—	٠,٥ مل	٠,٥ مل
ستر بتوليزين جاهز	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل

وفي أنبوب ٧ ضع: ٠,٥ مل وقاء + ٠,٢٥ ستر بتوليزين (شاهد إيجابي)

٣ ـ إمزج الأنابيب، واحضن بالدرجة ٣٧° م لمدة ١٥ دقيقة ثم:

معلق ٥٪ من دم طازج O^+ ومغسول	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل	٠,٢٥ مل

ـ وفي الأنبوب ٧ ضع ٠,٢٥ مل معلق كريات أيضاً.

ـ وفي أنبوب ٨ ضع ٠,٧٥ مل وقاء + ٠,٢٥ مل معلق كريات (شاهد كريات سلبي).

٤ ـ امزج جيداً، احضن بالدرجة ٣٧°م بالحمام المائي لمدة ٤٥ دقيقة، ثم ثفّل بهدوء.

ـ إن أعلى تمديد لا يبدي انحلالاً هو المطلوب.

ـ تكتب النتيجة بـ: وحدة تود Todd unit وهي اصطلاحاً: مقلوب التمديد السابق: (مثلاً: أعلى تمديد لا يبدي انحلالاً هو في الأنبوب ٣ (٤٠٠ : ١) والنتيجة:

عيار أضداد الحالّة العقدية ٤٠٠ وحدة تود).

* تأكد! يجب أن يكون الانحلال كاملاً في الأنبوب ٧ (شاهد إيجابي).

* تأكد! يجب أن لا يكون هناك أي انحلال في الأنبوب ٨ (شاهد سلبي).

الوقاء: إما أن يكون عبارة عن مسحوق جاهز مع الكيت، أو يحضر يدوياً كما يلي:

فسفات ثنائية الصوديوم Na2HPO4	٨ر١ غ
فسفات أحادية البوتاسيوم KH2PO4	٢ر٣ غ
ملح الطعام النقي NaCl	٤ر٧ غ

١٢,٤ غ تكمل ← ١ ليتر بالماء المقطر.

(PH = 6.6 ± 0.1) عن تود.

٣ ـ العامل الرثياني Rhumatoid Factor / RF:

التعريف:

العامل الرثياني عبارة عن مجموعة غلوبولينات مناعية (من نوع IgM غالباً مع قليل من الـ IgG) مضادة للغلوبولينات المناعية الذاتية للإنسان، تشكّلت بأسباب مجهولة في سياق أمراض المناعة الذاتية، ويهمنا كشفها وعيارها في تشخيص الحمى نظيرة الرثية (الداء الرثياني).

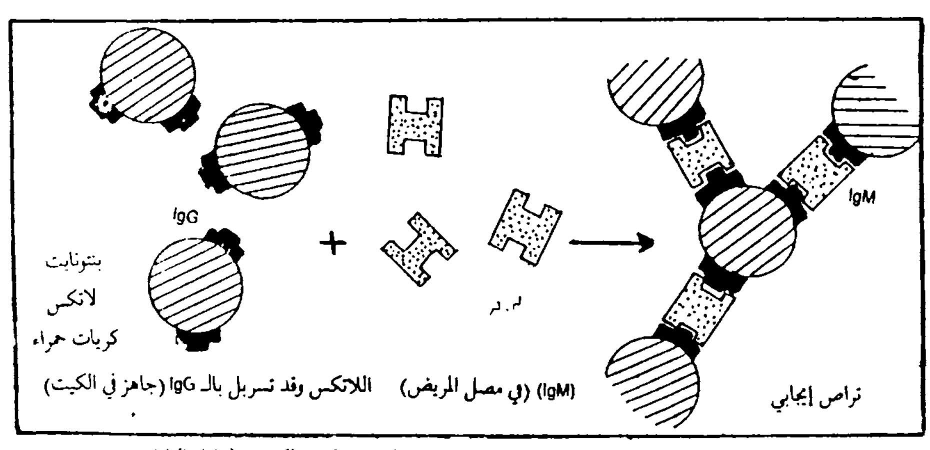
(ذاتي RF = IgM Anti IgG) .

ـ إن الطرق المطبقة تعتمد على كشف نوع الـ IgM فقط دون غيره ، وهي تستخدم غلوبولينات جاهزة IgG تسربل جزيئات اللاتكس ، وهذ الـ IgG تكون بمثابة المستضد الذي سيتحد مع العامل الرثياني ، الذي سيلعب دور الضد عند وجوده .

ـ يتم كشف وعيار الـ RF معايرة نصف كمية بطرق مختلفة أهمها :

١ ـ بالتراص الدموي اللا مباشر (تفاعل وولر روز) على الأنابيب (بكريات حمر الخروف) .

٢ ـ بتراص اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة أو على الأنابيب (راجع التراص اللا مباشر) : على صفائح سوداء ، وبإضاءة أمامية علوية بيضاء (تجنب الجفاف) .



الشكل (٣٨) : شكل ترسيمي يوضح اختبارات التراص المختلفة المجراة لكشف العامل الرثواني

التقييم: إن العيار الهام والمميز لداء التهاب المفاصل الرثياني هو أكثر أو يساوي ٨٠ : ١، أما التراكيز الأقل من ذلك فتدل على حالات التهابية مناعية أو خمجية أخرى مع التهاب المفاصل الرثياني، ومن هنا نلاحظ أهمية ذكر العيار عند كل تراص.

- تبلغ نسبة إيجابية العامل الرثياني في مصول المرضى المصابين حوالي ٧٠٪ فقط، فإيجابية بالعيار السابق توجه نحو وجود الداء الرثياني، أما سلبيته فلا تنفي ذلك.

- إن العامل الرثياني إيجابي في السائل المفصلي المصاب عند ٦٠٪ من المرضى فقط.

- تنخفض إيجابية العامل الرثياني حتى ١٠ - ٢٠٪ فقط عند المرضى المصابين بالتهاب المفاصل الرثياني الشبابي (لديهم RF من نوع IgG).

- ينخفض عيار الـ RF وقد يغيب أثناء فترات هجوع المرض، ويرتفع خلال أشهر من الهجمات الحادة.

٤ - البروتين الارتكاسي التحسسي C C.R.P

C.Reactive Protein

- ينشأ هذا البروتين في الكبد، وهو موجود في الدم بكميات زهيدة، ويزداد عياره في آفات مرضية كثيرة ومتنوعة، الأمر الذي يجعل من كشف CRP بالمصل أمراً غير نوعي لمرض معين، وإنما له دلالة على وجود فعالية التهابية ما بالجسم.

التقييم : إنَّ ارتفــاع كميــة الـ CRP له نفس دلالــة ارتفـاع معـدل ترسب الكـريـات الحمـراء (**سـرعـة التثفـل E.S.R**) ، إلا أن الـ CRP له حساسية أعلى ، ويرتفع بسرعة أكبر وبشكل أبكر: من سرعة التثفل ، كما أن عودته للطبيعي أسرع من التثفل .

- ترتفع قيم البروتين الارتكاسي C في أمراض كثيرة أهمها :

أ - الأمـراض الخمجيـة الحـادة : خمج اللوزات القيحي الحاد - خمج البلعوم القيحي الحـاد - خمج الأذن الـوسطى القيحي الحـاد - أخماج الجلد الحـادة الجـرثـوميـة (الـدمـامـل - القـوباء) - أخماج شَغاف القلب القيحية الحادة - الإصابات السلية الحادة - ذات القصبات والرئة الجرثومية الحادة . . .

ب - الأمـراض النخـريـة الحادة : (أي المترافقة مع تموّت نسيجي) : كما في إحتشـاء العضلة القلبيـة - إحتشـاء الرئة - احتشاء أوعية البطن المساريقية - احتشاءات الدماغ . . .

جـ - الأمـراض الإلتهـابيـة الحادة : كما في الهجمات الحادة لالتهاب المفاصل الرثياني - الهجمة الحادة لإلتهاب كبب الكلية - الرثية المفصلية الحادة - الرثية القلبية الحادة . . .

- يتم كشف الـ CRP وعياره بطرق كثيرة ، أهمها :

١ - الانتشـار المنـاعي البسيـط : ونعطي فيـه عيار البروتين الارتكاسي بدقة مغ / دسل (أضداد للـ CRP ضمن الهلام) .

٢ - اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة : حيث تُثبت أضداد الـ CRP على جزيئـات الـلاتكس ؛ ويكـون التعبـير بالنتيجـة : إيجـابي خفيف (+) ، أو

متوسط (++)، أو شديد (+++)، دون إجراء العيار. (على عكس الـ RF). (راجع التراص اللا مباشر). ويتم العمل على الصفائح السوداء كما سبق.

٥ ـ اختبارات الحمل المناعية : Pregnancy Tests:

على الرغم من بساطة الطرائق المطبقة لكشف الحمل في المختبر الطبي، غير أن كلمة (يوجد حمل) أو(لا يوجد حمل) تعني الكثير والكثير جداً بالنسبة للأسرة، وللطبيب الفاحص، الذي سيمتنع عن استعمال قائمة طويلة من الأدوية، وسيضطر لاستخدام الأدوية الضرورية حصراً على الرغم من الحاجة لغيرها. . . إن هذا القرار الهام يتجاوز بكثير مجرد إضافة قطرة كاشفة فوق عينة بول المرأة للوصول إلى النتيجة السهلة ببساطة!

ـ إن أساس اختبارات الحمل فيما مضى وإلى الآن هو: **كشف هرمون «المنمي التناسلي الكوريوني الإنساني» والذي يرمز له إختصاراً بـ H.C.G عند المرأة الحامل، في بولها أو في الدم، على اختلاف الطرق المطبقة.**

ـ هرمون الـ H.C.G الذي يدل على وجود الحمل،هو بروتين سكري تفرزه الطبقة المغذية من مشيمة الجنين (المضغة)، ويتألف من سلسلتين رئيسيتين: الجزء ألفا ∝ ، والجزء بيتا β ، والسلسة ∝ في HCG تتشابه مع السلسلة ∝ أيضاً في الهرمونات التالية: T.S.H, F.S.H, L.H . . . في حين أن السلسلة β والقطعة (β +∝) متميزتان في HCG عن سائر الهرمونات

الأخرى، وهذا أمر هام لنوعية الاختبارات. (رَ: النوعية أول الفصل الثالث).

ـ يبدأ إفراز الـ HCG منذ أول الحمل، ويبلغ ذروته في الأسبوع العاشر في المشيمة والدم والبول، ثم ينحدر سريعاً للثلث حتى حوالي الأسبوع العشرين، ويستمر بهذا المقدار حتى آخر الحمل، وهذه الأرقام عُرضة للتغيير بين امرأة حامل وأخرى بشكل واضح وهام، الأمر الذي يفرض علينا إعادة التحليل لأكثر من مرة أحياناً للتأكد من حالات السلبية.

ـ استعملت الاختبارات الحيوية سابقاً (اختبار الحمل الحيوي لتشخيص الحمل) وذلك بحقن بول المرأة الحامل لفئران التجربة، أو الأرانب، ولكن الاختبارات الحيوية القديمة هذه اضمحلت وتراجعت شيئاً فشيئاً لتفسح المجال للاختبارات المناعية التي طُبقت منذ عام ١٩٦٠ على نطاق واسع (أسهل ـ أدق ـ أسرع . . .).

ـ هناك عدة عوامل تجعل كشف الـ H.C.G بالبول عُرضة لتغيرات واسعة في المرأة. نعدُّ منها: تمدّد عينة البول بتناول السوائل (ماء ـ شاي ـ قهوة. .) مما يؤدي إلى انخفاض تركيز H.C.G خاصة في الأيام الأولى ـ عدم معرفة الوقت الحقيقي للإباضة وللحظة الإلقاح ـ اضطرابات الدورة الطمثية عند بعض النساء أو نسيانهن لها. . وغيرها كثير. . وكلها أمور تجعل إعادة الاختبار، أو التريث لأيام في إجرائه: أمراً هاماً، وهذه الاعتبارات كلها لها قيمة في حساسية الاختبارات (رَ: الحساسية: أول

الفصـل الثـالث)
تطبق عدة طرق لكشف هرمـون H.C.G في بول المـرأة الحامل، وفي مصلها، وآثرتُ تصنيفها حسب حساسيتها، فأقول:

ـ طرق كشف الـ HCG في بول المرأة الحامل:

إن كيتـات* الحمـل المحضـرة لهذه الطريقـة تكشف مقداراً أعلى أو يساوي: ٣ , ٠ ـ ٥ , ٠ ـ ٣ وحدة دولية H.C.G / مل بول، لا أقل من ذلك على اختـلاف حسـاسيـة كل كيت عن الآخـر، وفي حال كانت عينة البول الصباحية وعلى الريق، والدورة منتظمة، فإن هذه الكيتات تكشف الحمل منذ اليوم ٦ ـ ١٠ من تأخر الدورة الطمثية وقد نضطر للإعادة في حال السلبية:

أ ـ طريقة اللاتكس اللا مباشر على الصفيحة:

حيث تقوم الشركة الصانعة بتثبيت Anti - H.C.G على جزيئات اللاتكس.

ـ تُعامل قطرة من كاشف اللاتكس مع قطرة بول رائق (بعد تثفيله إن كان عكـراً، والـترشيـح بالمراشح المرافقة لا يكفي، بل لا بد من التثفيل)، وظهـور الـتراص يعني: حمل إيجـابي (+) (خـلال ٣ دقـائق)، وعـدم ظهور الـتراص: حمل سلبي (−)، وهنـا قد نحتـاج للإعـادة بعـد ٥ ـ ٧ أيـام ثانية

* كيتات: كيت Kit = مجموعة المواد الكاشفة الجاهزة.

للتأكد. يجرى الاختبار على صفيحة سوداء مع إضاءة أمامية علوية بيضاء.
تجنّب الجفاف.

أمثلة عن الشركات المصنعة :.Human - Organon - Biokit ...

٢ ـ طريقة نهي تراص اللاتكس على الصفيحة :

الكيت هنا يحوي زجاجة كاشفة ثانية وهي زجاجة المصل الضدي Anti Serum وهي (Anti - HCG) على شكل محلول سائل غير معلق، مهمته إحداث نهي تراص جزيئات اللاتكس على الصفيحة (خلال ٣ دقائق).

يتم هذا **الاختبار على مرحلتين (دائماً على طافي البول الرائق) :**

١ ـ المرحلة الأولى:

قطرة بول (H.C.G الحامل) + **قطرة** من [illegible]

(جاهزة تجارياً).

في حال حوى بول المرأة على H.C.G ، يتم تعديل الـH.C.G بالمصل الضدي، ولا نشاهد أي تراص عيانياً في هذه المرحلة.

٢ ـ المرحلة الثانية :

تضاف جزيئات اللاتكس المسربلة بالـH.C.G (جاهزة : كاشف لاتكس) : فإذا لم يحصل أي تراص، فمعنى هذا أن بول المرأة يحوي الـ H.C.G عدّلت بالـ Anti H.C.G السابق وهذا يدل على وجود الحمل.

(عدم حصول التراص = نهي تراص اللاتكس ⟵⟶ حمل إيجابي «+» خلال ٣ دقائق).

ـ أما في حال عدم احتواء بول المرأة على الـH.C.G ، وبعد إضافة كاشف اللاتكس، ستتحد أضداد Anti H.C.G الجاهزة مع جزيئات اللاتكس المسربلة بالـ H.C.G مسببة تراص اللاتكس.

(حصول تراص اللاتكس ⟷ حمل سلبي «−»).

ـ يجرى الاختبار ـ مثل كافة اختبارات اللاتكس ـ على صفيحة سوداء، مع إضاءة أمامية علوية بيضاء، تجنب حدوث الجفاف.

ـ من الممكن تطبيق نهي التراص باللاتكس على الصفيحة، وهناك كيتات تطبق مبدأ نهي التراص الدموي على الأنابيب، ومثال الصفيحة باللاتكس شركات: S.A.S - Wampole . . .

٣ً ـ طريقة التراص الدموي اللا مباشر على الأنابيب:

وتصل حساسية هذه الطريقة إلى كشف ٠,٠٧٥ وحدة HCG / مل بول وهي تحتاج لـ ٢ ـ ٣ ساعات للقراءة، ويسميها البعض. «كشف الحمل الباكر» (٧٥ ميلي وحدة / مل بول). وربما كشفت الحمل في اليوم الأول لتأخر الدورة مثالها: شركة أورغانون ـ أنابيب، شركة وامبول ـ دياميد . . .

ـ طرق كشف وعيار الـ H.C.G بدم المرأة (المصل):

والتطبيق الهام لها هو متابعة حالات **الرَحَىْ العداريّة** (الحمل العنقودي) أو سرطان المشيمة (كوريوكارسينوما) بعد الاستئصال والمعالجة.

ـ يتم استخدام **طريقة المقايسة المناعية الشعاعية** R.I.A ، وتتيح لنا

عيار كميات لا تتجاوز ٥, ٠ ميلي وحدة دولية H.C.G / مل مصل. (ميلي وحدة: جزء من الألف من الوحدة الدولية). وهي طريقة نوعية وذات حساسية ودقة فائقة، ولكنها مكلفة.

م١ - هناك تطبيقات جديدة لكشف H.C.G بطريقة إليزا E.I.A على بول المرأة الحامل (دياميد).

م٢ - إن البيلة البروتينية أو الدموية أو الجرثومية أو بعض الأدوية بالبول: كلها عوامل قد تسبب ظهور تفاعل حمل مناعي إيجابي كاذب في البول، كما أن تناول كميات كبيرة من السوائل أو عدم حفظ عينة البول جيداً قد يسبب ظهور تفاعل حمل سلبي كاذب.

م٣ - للمزيد من المعلومات عن تقييم إختبارات الحمل المناعية، راجع في جزء تالٍ من هذه السلسلة.

بعونه تعالى

انتهى الجزء الثالث من هذه السلسلة

ويليه الجزءان الرابع والخامس بالموضوعات التالية:

- تحريات البول والراسب البولي مع فحوصات السوائل المصلية
- الدمويات العامة

ثبت المراجع

١ ـ محاضرات الأستاذ الدكتور محجوب جير ودي ـ المناعيات ـ قسم الطب المخبري ـ جامعة دمشق.

٢ ـ محاضرات الدكتور علاء الدين الصفدي ـ الجراثيميات ـ في قسم الطب المخبري ـ جامعة دمشق.

٣ ـ الترجمة العربية لقسم الجراثيم من كتاب Mosby Clinical Laboratory Methodes ترجمة الزميل الدكتور محمد حسن آغا مع ثُلة من أطباء الدراسات العليا ـ بإشراف الهيئة التدريسية في قسم الطب المخبري ـ جامعة دمشق.

٤ ـ هاريسون ـ الطب الباطني ـ الترجمة العربية ـ كلية الطب ـ جامعة دمشق.

٥ ـ يبسائط علم المناعيات ـ تولى. ر. بوري ـ ترجمة: الأستاذ الدكتور هيثم الخياط.

٦ ـ دليل الطرائق الأساسية في المختبرات الطبية ـ منظمة الصحة العالمية.

٧ ـ علم النسيج العام ـ المرحوم الأستاذ الدكتور كنعان الجابي ـ كلية الطب ـ جامعة دمشق.

٨ ـ علم الجراثيم ـ الجزء العملي ـ الأستاذ الدكتور ميخائيل عبيد ـ كلية الصيدلة ـ جامعة دمشق.

٩ ـ علم الجراثيم ـ الأستاذ الدكتور عمر بلاش ـ كلية الطب ـ جامعة دمشق.

١٠ ـ علم الجراثيم ـ الأستاذ الدكتور عدنان تكريتي ـ كلية الطب ـ جامعة دمشق .

١١ ـ الترجمة العربية لكتاب معالجة الأمراض الباطنة ـ كلية الطب ـ جامعة دمشق .

١٢ ـ محاضرات مترجمة لأطباء الدراسات العليا ـ قسم الطب المخبري ـ جامعة دمشق .

13 - Current: Medical Diagnosis - Treatment

14 - Cultur media - Merck - Criterion for Quality

15 - Clinical Wardround (B.I.germany):

16 - Difco - Manual - Bacteriology

17 - Bio - Mériexu: Bactériologie

18 - Petite Encyclopedie Médical

19 - Review of Medical Microbiology . 15 th. E.

20 - Interpretation of Diagnostic Tests 4 th E.

فهرس الموضوعات

- الأضداد (الغلوبولينات المناعية): تعريفها وإفرازها - تصنيفها - خواصها - موقعها في رحلان بروتينات المصل - أشكالها ووظائفها - أطوار الغلوبولينات المناعية عبر حياة الطفل.

- جملة المتممة: طريقتا تفعيلها: بالسبيل التقليدية بسبيل البروبردين (البديل)

- مشاركة المتممة في الرد المناعي ومثالها في أمراض المناعة الذاتية

- خلاصة المناعة الخِلطية.

- خلاصة المناعة الخَلوية.

* **الفصل الثاني**: مبادىء التفاعلات المناعية:

- شروطها الفيزيائية العامة - التراص الأعظمي (شبكة المعقدات المناعية) وظاهرة المنطقة.

- تفاعلات التراص: التراص المباشر - التراص اللا مباشر.

- تفاعلات التعديل.

- تفاعل تثبيت المتممة.

- تفاعلات الانتشار المناعي في وسط هلامي:
  - الانتشار المناعي البسيط
  - الانتشار المناعي المضاعف.

- تفاعلات التألق المناعي (الومضان):
  - التألق المناعي المباشر.
  - التألق المناعي اللا مباشر.